

Zur Technik der
Newcastle-Sprayvakzination
beim Huhn

Wolf-Dieter Graunke

1976



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Tiergesundheitsdienst Bayern
Fachabteilung Geflügelgesundheitsdienst

Leitung: Prof. Dr. P. Dorn

Zur Technik der
Newcastle-Sprayvaccination
beim Huhn

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
des Fachbereiches Tiermedizin der Ludwig-Maximilians-Universität
München



von
Wolf-Dieter Graunke
aus
Greifswald

München 1975

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches
Tiermedizin der Universität
München

Dekan: Prof. Dr. B. Vollmerhaus
Referent: Prof. Dr. P. Dorn
Korreferent: Prof. Dr. I. Gylstorff

Tag der Promotion: 27. Februar 1976



brigitte und friederike

A. Einleitung	1
B. Literatur	
I. Anwendungsgebiete von Aerosolen in der Veterinärmedizin	2
II. Spray-Geräte	5
III. Tröpfchengröße bei der Spray- Vakzination	7
IV. Verdünnungsmedien	9
V. Virus-Stämme für die Vakzination	10
VI. Verträglichkeit der Spray-Vakzination	13
VII. Einfluß des Immunstatus der Impflinge auf die Antikörper-Bildung	15
VIII. Vergleich zwischen Trinkwasser- und Spray-Vakzination	18
C. Eigene Untersuchungen	
I. Material und Methode	
1. Versuchstiere und Versuchstier- haltung	20
2. Blutentnahme und Antikörper-Be- stimmung im Serum	20
3. Vakzinen und Vakzination	22
4. Testinfektion	22
5. Technische Daten der verwendeten Spray-Geräte	23
6. Tröpfchengrößen-Bestimmung	25

II. Ergebnisse

1. Tröpfchengrößen und Auswurf- mengen der geprüften Spray-Geräte	27
2. Antikörper-Entwicklung nach ein- maligem Einsatz verschiedener Geräte	33
3. Verfolgungs-Untersuchung bei wieder- holter Spray-Vakzination mit jeweils gleichem Gerät	38
4. Zweimalige Spray-Vakzination mit Wechsel der Geräte	43
5. Spray-Vakzination mit verschiedener Vakzine-Konzentration und verschie- denen Spray-Auswurfmengen bei zwölf Tage alten Küken	48
6. Spray-Vakzination mit verschiedener Vakzine-Konzentration und verschie- denen Spray-Auswurfmengen bei zehn Wochen alten Hähnen	53
7. Vergleich zwischen Spray-Vakzination und Trinkwasser-Vakzination (13 Tage alte Küken, Feldversuch)	58
8. Vergleich zwischen Spray-Vakzination und Trinkwasser-Vakzination (Lege- hennen, Feldversuch)	64

D. Diskussion	70
E. Zusammenfassung	83
F. Literaturverzeichnis	87
G. Lebenslauf	97

A. Einleitung:

Die Immunisierung des Geflügels gegen die Newcastle-Krankheit ist trotz jahrzehntelanger Anwendung nicht ohne Probleme. Der Wandel in technischen Haltungssystemen und Seuchenzügen, die den Infektionsdruck kurz- oder längerfristig erhöhen, geben Veranlassung, nach Verbesserung des Infektionsschutzes zu suchen.

Im Rahmen dieser Untersuchungen war mir deshalb die Aufgabe gestellt, technische Fragen und die Antikörper-Bildung bei der Spray-Vakzination zu untersuchen.

B. Literatur:

I. Anwendungsgebiete von Aerosolen in der Veterinärmedizin

In der Veterinärmedizin wird in jüngerer Zeit über verschiedene Einsatzmöglichkeiten der Aerosoltherapie berichtet.

So konnte KRAFT (1962) bei der Applikation eines Antibiotikum beim Hund einen therapeutischen Blutspiegel erzielen. Aus dem parasitologischen Arbeitsbereich liegen Arbeiten von ENIGK (1956) vor, welche die Aerosoltherapie bei Wiederkäuern beschreiben. Durch Arzneimittelve Nebelung läßt sich der Lungenwurmbefall bei Rind und Schaf bekämpfen.

GRÄNZER (1968) konnte mit der Aerosoltherapie bei Kälbern Gammaglobuline und HAASE (1968) bei Ratten und Hunden Gammaglobuline und Vitamin A über die Lunge zur Resorption bringen.

ACKERMANN (1966) beschreibt eine Vakzinationsmethode gegen Staupe in Nerzfarmen mittels des Spray- oder Aerosolverfahrens. Mit einem Gerät, das einen feinen Nebel auswirft, können Nerze erfolgreich immunisiert werden. Möglichkeiten zur Anwendung von Spray-Vakzination wurden besonders in der Massengeflügelhaltung untersucht. Mit der Spray-Vakzination beim Huhn gegen die atypische Geflügelpest befassen sich mehrere Autoren.

So berichten MARKHAM und MITARBEITER (1955) über die Zerstäubung von trocken pulverisierter Newcastle-Vakzine, vermischt mit Talkum oder Aluminiumsilikat.

Mit diesem "Pulver-Spray" konnten sie in großen Hühnerbeständen erfolgreiche Vakzinationen durchführen.

Über die Versprühung von wässrigen Vakzine-Suspensionen, der eigentlichen Spray-Vakzinationen, berichten REISING und HITCHNER (1954).

ANDRÉ (1966) berichtet erstmals in der BRD über die praktische Anwendung des Sprayverfahrens gegen die atypische Geflügelpest, wobei er Vergleiche zwischen Trinkwasser-Vakzination sowie "Pulver-Spray" und wässriger Spray-Vakzination anstellt.

BEARD und EASTERDAY (1967) vergleichen verschiedene Vakzinationstechniken bezüglich ihrer immunisierenden Wirkung. Sie prüfen die Antikörper-Entwicklung nach intramuskulären, conjunctivalen und nasalen Virusgaben im Vergleich zur Spray-Vakzination mit einem elektrisch betriebenen Spray-Gerät.

SIGIMURA (1970), DORN und MITARBEITER (1973) und ALLAN (1973) weisen bei ihren Spray-Versuchen auf den Einfluß maternalen Antikörper bei Vakzinierung in den ersten Lebenstagen hin.

Bei Vergleichen verschiedener Vakzinationstechniken stellen GOUGH und ALEXANDER (1973) die Spray-Vakzination als geeignetste Methode zur Erzielung hoher Antikörper-Titer heraus. Daß bei Spray-Vakzinationen zwischen der Antikörper-Entwicklung

und dem benutzten Verdünnungsmittel und der Tröpfchengröße einzelner elektrisch betriebener Geräte ein Zusammenhang besteht, beweisen GOUGH und ALLAN (1973).

SCHULZE-REHM (1973) verglich in seinen Versuchen mit der Spray-Vakzination die immunisierende Wirkung der Impfstämme La-Sota und Hitchner-B₁.

ROEPKE (1973) empfiehlt nach seinen Untersuchungen die Spray-Vakzination gegen die Newcastle-Krankheit besonders wegen der damit zu erzielenden schnellen Immunität, die sich im Vergleich zur Trinkwasser-Vakzination auch in einem wesentlich höheren Antikörper-Spiegel ausdrückt.

II. Spray-Geräte

GRÄNZER (1968) und HAASE (1968) benutzen bei ihren Versuchen zur Gammaglobulin-Verabreichung ein sehr fein verteilendes Spray-Gerät. Dieses Oxyparat-Gerät wird auch zur Immunisierung von Nerzen benutzt (ACKERMANN, 1966). Die in Wasser gelösten Wirkstoffe werden bei diesem Gerät durch Druckluft zerstäubt.

MARKHAM (1955) verwendete bei seinen Spray-Vakzinationen eine einfache Flit-Spritze, bei der relativ große Tröpfchen ausgeworfen werden und eine nicht näher beschriebene elektrisch betriebene Farb-Zerstäuberpistole.

Auch LANDGRAF und VIELITZ (1972) verwenden in ihren Versuchen zur Spray-Immunisierung eine Flit-Spritze. Ebenso wie die Flit-Spritze und die von DORN und MITARBEITERN (1973) benutzte Kolbenrückenspritze arbeiten auch die von GOUGH und ALLAN (1973) und ROEPKE (1973) benutzten elektrisch betriebenen Geräte nach dem Zerstäuberprinzip.

Nach dem Schleudertellerprinzip arbeitet das Gerät, welches von SCHULZE-REHM (1973) zur Spray-Vakzination eingesetzt wurde.

GOUGH und ALLAN (1973) setzten in ihren Untersuchungen noch ein zweites Gerät ein, das nach dem Propellerprinzip arbeitet. Bei den elektrisch betriebenen Zerstäuber-Geräten wird die aus dem Vorratsbehälter gepumpte Flüssigkeit durch einen Gebläse-Luftstrom in kleine Tröpfchen zerteilt und durch eine Öffnung, die in ihrem Durchlaßvermögen regulierbar ist, nach außen geworfen.

Ähnlich diesem Prinzip, jedoch durch manuell erzeugten Druck, arbeiten Kolbenrückenspritzen. Bei diesen Geräten wird ein Druckluftbehälter über Kolbenhub unter Druck gesetzt und das unter Druck stehende Wasser durch eine Zerstäuberdüse gepreßt.

Bei den nach dem Schleudertellerprinzip arbeitenden Geräten wird die in einem Vorratsbehälter befindliche Flüssigkeit gegen eine rotierende Scheibe geleitet und zerrissen. Durch die erzeugten Turbulenzen der Scheibe entsteht ein Flüssigkeit-Luft-Gemisch, das durch die Auslaßöffnung ausgeschleudert wird.

Bei den Propeller-Geräten wird aus dem Vorratsbehälter Flüssigkeit auf die Rückseite eines rotierenden Propellers geleitet und in kleine Tröpfchen zerrissen. Durch die Propeller-Flügel wird ein Sog erzeugt, der das so entstandene Wasser-Luft-Gemisch auswirft.

III. Tröpfchengrößen bei der Spray-Vakzination

Da verschiedene Geräte ein unterschiedliches Tröpfchengrößen-Spektrum aufweisen, wird die Frage diskutiert, welcher Größenbereich sich für eine Spray-Immunisierung überhaupt eignet:

Nach MARKHAM und MITARBEITER (1955) können Tröpfchen mit einer Größe von 0,5 bis 1 Mikron tief in den Respirationstrakt eindringen. Tröpfchen mit einer Größe von 100 Mikron, die zwar viel Virus enthalten, erreichen dagegen wegen der schnelleren Absinkgeschwindigkeit oft nicht die Schleimhäute des oberen Respirationstraktes.

STEPHENS (1973) stellt grundsätzlich fest, daß kleine Tröpfchen übermäßige Impfreaktionen hervorrufen, größere Tröpfchen unter Umständen zu keiner Immunitätsbildung führen.

Für eine zu erzielende Tiefeninhalation gibt BÖHM (1952) einen Tröpfchengrößen-Bereich an, der sich von 0,5 bis 5 Mikron erstreckt; größere Tröpfchen verbleiben nach seinen Angaben bereits im oberen Respirationstrakt.

BEARD und EASTERDAY (1967) berichten bei ihren Spray-Versuchen über einen Tröpfchengrößen-Bereich von 1 bis 2 Mikron. Dieses fein zerteilende Gerät wird von ihnen sowohl zur Spray-Vakzination, als auch zur Testinfektion verwendet.

Bei den Spray-Versuchen der VINELAND LABORATORIES (HUBBART, 1973) wird ein Tröpfchengrößen-Bereich von 15 bis 60 Mikron für eine gute Immunantwort der Impflinge angegeben.

SCHULZE-REHM (1973) bezieht sich bei seinen Spray-Ver-suchen auf den vom Hersteller angegebenen Tröpfchengrößen-Bereich von 5 bis 60 Mikron.

Tröpfchengrößen-Bestimmungen unter Verwendung verschiedener Medien zeigen, daß mit dem gleichen Gerät unterschiedliche Tröpfchenverteilungsmuster zu erzielen sind. Darauf weisen GOUGH und ALLAN (1973) in ihren mit verschiedenen Medien durchgeführten Versuchen hin. Es wurde das Tröpfchenverteilungsmuster im Bereich von 0,3 bis 8 Mikron unter Verwendung von aqua destillata, Leitungswasser und deionisiertem Wasser mit 0,2 % Gelatinezusatz mit einem Dreistufen Trockenpartikel-Meßgerät (Trockenpartikel-Durchmesser) ermittelt. Mit destilliertem Wasser sind prozentual mehr kleinere Tröpfchen zu erzielen, als mit Leitungswasser und deionisiertem Wasser mit Gelatinezusatz.

Die oben genannten Autoren weisen gleichzeitig auf Faktoren hin, die Einfluß auf die Tröpfchengröße haben. Zu ihnen gehören Temperatur, Luftfeuchtigkeit und Luftbewegung in den Stallungen.

Weiterhin muß hinsichtlich der Tröpfchengröße zwischen den vom Gerät ausgeworfenen Tröpfchen und den eingeatmeten Tröpfchen unterschieden werden.

Nach PORSTENDÖRFER (1971) können sich die inhalierten Tröpfchen in der feuchten Atmosphäre der oberen Luftwege rasch durch Kondensation vergrößern.

IV. Verdünnungsmedien

Üblicherweise wird bei der Spray-Vakzination Leitungswasser als Verdünnungsmedium benutzt.

Während Wasserhärte, Salz- und Eisengehalt das suspendierte Vakzinevirus nur unwesentlich beeinflussen (WINTERFIELD und SEADLE, 1956), vermag der Gehalt an Chlor, Fluor und Desinfektionsmitteln das Vakzinevirus deutlich in der Wirkung abzuschwächen (DORN, 1971). Auf die schwankende chemische Zusammensetzung des Leitungswassers, insbesondere des oft hohen Chlorgehaltes und der damit verbundenen Verringerung der immunisierenden Wirkung des Vakzinevirus, weisen auch ROEPKE (1973), GOUGH und ALLAN (1973) hin.

STEPHENS (1973) berichtet über einen Glycerinzusatz zur Impfstoff-Suspension, um nach der Zerstäubung einen möglichst langen Schwebezustand der Vakzine und eine Stabilisierung zu erzielen.

Durch den Glycerinanteil wird die Sinkgeschwindigkeit der Spraypartikel reduziert und die Tiere intensiver der Vakzineinwirkung ausgesetzt.

Eine andere Spray-Technik führen MARKHAM und MITARBEITER (1955) durch. Sie mischen das Trockenvirus in Talkum oder Aluminiumsilikat und zerstäuben diese Mischung mit einer Flit-Spritze über die Tiere. Den besonderen Vorteil dieser Technik sehen sie außer in der Nachahmung des natürlichen Infektionsweges im engen Teilchengrößen-Spektrum der Talkumpartikel.

V. Virusstämme für die Vakzination

Von den beiden üblichen Lebendimpfstoffen La-Sota und Hitchner-B₁ ist bekannt, daß sie bei Verwendung als Trinkwasser-Vakzine reaktionslos vertragen werden (LANDGRAF und VIELITZ, 1970).

WINTERFIELD und MITARBEITER (1957) wiesen bei ihren Vergleichsuntersuchungen beider Stämme darauf hin, daß bei der Trinkwasser-Vakzination mit dem Stamm La-Sota höhere Antikörper-Titer zu erzielen sind. Die gleiche Aussage machen VEIMOS und MITARBEITER (1973). Sie bezeichnen den Stamm La-Sota als Impfstamm der Wahl. Dagegen stellen JANSEN und LUEDERS (1971) bei der Verwendung beider Stämme zur Trinkwasser-Vakzination keine unterschiedlichen Antikörper-Entwicklungen der vakzinierten Tiere fest. Auch nach den Untersuchungen von SCHULZE-REHM (1973) sind keine unterschiedlichen Antikörper-Titer bei Verwendung beider Stämme zur Spray-Vakzination an Küken festzustellen.

Bei Spray-Vakzinationen an Puten sah BENGELSDORFF (1973) beim Vergleich beider Impfstämme einen verbesserten Antikörper-Titer mit dem Stamm La-Sota im Vergleich zum Stamm Hitchner-B₁. Die gleiche Aussage machte LANDGRAF und VIELITZ (1972). Bei ihren Spray-Versuchen verursachte nur der Impfstamm La-Sota bei Küken mit bestehenden maternalen Antikörper eine voll belastbare Immunität, nicht jedoch der Impfstamm Hitchner-B₁.

Wie bereits von LANDGRAF und VIELITZ (1972) festgestellt, zeigte sich auch bei den Spray-Versuchen von SCHULZE-REHM (1973) eine horizontale Ausbreitung des Impfstammes La-Sota.

Die horizontale Ausbreitung des Vakzinevirus von spray-vakzinierten Gruppen auf Kontroll-Gruppen verursachte bei einem Teil der Kontrolltiere einen für Belastungsinfektionen ausreichenden Antikörper-Titer.

Bei der Anwendung verschiedener Impfstämme taucht die Frage nach dem für den Vakzinationserfolg erforderlichen Virusgehalt auf. Die üblichen Trinkwasser-Vakzinen sollten nach MONREAL und MITARBEITER (1972) einen Mindestvirusgehalt von $10^{6,6}$ EID₅₀ pro Tier aufweisen. Die gleichen Autoren bestimmten 1971 die Minimal-Dosis für die Trinkwasser-Vakzination. Sie beträgt für die Stämme La-Sota und Hitchner-B₁ 2×10^4 EID₅₀ pro Tier.

Die Autoren prägten den Begriff der "minimalen immunogenen Dosis". Sie stellt diejenige Virusmenge dar, die nötig ist, um alle Impflinge erfolgreich zu immunisieren. In diesen Versuchen werden Virusmengen von 2×10^2 EID₅₀ bis 2×10^6 EID₅₀/Tier der Impfstämme La-Sota und Hitchner-B₁ an vier Küken-Gruppen mit nicht mehr nachweisbaren maternalen Antikörpern gegen die atypische Geflügelpest verabreicht.

Die Virusmengen wurden bei den vier Gruppen jeweils intratracheal, naso-oral, oral und bei Gruppe 4 in den Kropf gegeben. Es zeigte sich, daß die immunisierende Minimal-Dosis in ihrer Höhe von Organsystemen abhängig ist, die das Impfvirus erreicht. So wurden für die Auslösung einer befriedigenden Immunantwort die geringste Dosis an Vakzinevirus für die intratracheale Verabreichung, die größte Dosis bei der

Kropf-Instillation benötigt. Die minimale immunogene Dosis für die intratracheale Verabreichung, die einer Spray-Vakzination am Nächsten kommt, beträgt etwa 10^2 EID₅₀ pro Tier.

SCHULZE-REHM (1973) arbeitet bei seinen Spray-Versuchen mit Impfstoff-Chargen mit einem Virusgehalt von $10^{9,61}$ EID₅₀/100 Dosen bis $10^{10,86}$ EID₅₀/500 Dosen d.h., Virismengen pro Tier je nach Charge von $10^{7,38}$ EID₅₀ bis $10^{8,44}$ EID₅₀.

ROEPKE (1973) wies in seinen Versuchen auf unterschiedliches Immunisierungsvermögen bei vier Hitchner-B₁-Vakzinen und vier La-Sota-Vakzinen gleichen Virusgehaltes aber verschiedener Hersteller hin.

Ebenso stellt DORN (1973) fest, daß La-Sota-Vakzinen verschiedener Hersteller in der BRD nicht ohne weiteres miteinander vergleichbar sind.

VI. Verträglichkeit der Spray-Vakzination

ANDRÉ (1966) stellt in seinen Versuchen die Vorteile der Spray-Methode heraus, weist aber gleichzeitig auf deutliche Impfreaktionen bei ca. 20 % der Tiere hin, bei denen die Spray-Vakzination zur Erstimmunisierung eingesetzt wurde. Nach scheinbarer Besserung der klinischen Erscheinungen 8 tg.p.v. traten am 12. bis 16. tg.p.v. plötzliche Todesfälle auf, die durch latente Infektionen, z.B. Mykoplasmosen, hervorgerufen wurden.

Über respiratorische Symptome im Anschluß an die Vakzination berichten mehrere Autoren. Die Angaben über die Dauer dieser klinischen Erscheinungen schwanken zwischen ein bis zwei tg.p.v. (PRICE und MITARBEITER, 1955), fünf bis zehn tg.p.v. (WINTERFIELD und MITARBEITER, 1957) und zwei bis fünf tg.p.v. (SCHULZE-REHM, 1973).

LANDGRAF und VIELITZ (1972) beobachteten bei ihren Spray-Versuchen Todesfälle.

DORN und MITARBEITER (1973) bezeichnen zwar die Verträglichkeit der Spray-Vakzination als gut, weisen aber gleichzeitig auf leichte respiratorische Symptome für die Dauer von sechs Tagen hin. Sie machen auf zu erwartende klinische Reaktionen bei Mykoplasma-belasteten Herden in Zusammenhang mit der Spray-Vakzination aufmerksam.

Nach HOFSTAD (1965) muß in Mykoplasma-belasteten Herden mit deren Aktivierung nach Aerosol- oder Pulver-Vakzinationen gegen infektiöse Bronchitis und Newcastle-Disease gerechnet werden.

GRATZL und KÖHLER (1968) sehen ebenfalls einen engen Zusammenhang zwischen der Vakzination gegen infektiöse Bronchitis oder atypische Geflügelpest und dem Ausbruch der Mykoplasmosen, besonders in hygienisch schlecht geführten Betrieben.

VII. Einfluß des Immunstatus der Impflinge auf die Antikörper-Bildung

Bei Serum-Antikörper-Untersuchungen stellte KALETA (1972) fest, daß der höchste Wert an maternalen Antikörpern drei bis dreieinhalb Tage nach dem Schlupf erreicht ist. Unabhängig von der Höhe des Ausgangstiters werden die maternalen Antikörper gleichmäßig aus dem Serum eliminiert. Anhand der von KALETA (1973) dargestellten Elimination maternaler Antikörper, läßt sich nach Bestimmung der Antikörper von Küken in den ersten Lebenstagen der Zeitpunkt vorausbestimmen, an dem die maternalen Antikörper fast vollständig aus dem Serum eliminiert sind.

WINTERFIELD und MITARBEITER (1957) weisen in ihren Versuchen darauf hin, daß Tiere, die im Alter von viereinhalb Wochen trinkwasser-vakziniert wurden, bessere Antikörper-Entwicklungen zeigen als solche, die bereits am vierten Lebenstag vakziniert wurden.

HIGGINS (1971) stellte bei seinen Vakzinations-Versuchen an Küken mit maternalen Antikörpern eine vollständige Neutralisation des Impfstammes F, einer italienischen Handelsvakzine fest.

STONE und BONEY (1972) stellen fest, daß maternale Antikörper den Impferfolg abschwächen können. Sie konnten bei Küken mit maternalen Antikörpern durch intratracheale Vakzination am ersten Lebenstag keine vergleichbare Immunisierung erzielen, wie bei gleichaltrigen Küken ohne maternale Antikörper.

LANDGRAF und VIELITZ (1972) schränken die Aussage über einen befriedigenden Vakzinationserfolg im Zusammenhang mit maternalen Antikörpern dahingehend ein, daß nur bei Verwendung des Impfstammes La-Sota und der Spray-Methode ein belastbarer Schutz gegenüber einer Testinfektion zu erzielen ist.

Eine relativ geringe Antikörper-Bildung beschreibt ROEPKE (1973) bei Vakzinations-Versuchen an vier Tagen alten Küken mit hohem Gehalt an maternalen Antikörpern.

Ebenso konnten DORN und MITARBEITER (1973) bei Küken mit einem hohen Spiegel mit maternalen Antikörpern in den ersten Lebenstagen mit der Spray-Vakzination keine ausreichende Immunität aufbauen. Erst am 12. Lebenstag verringerte sich die Hemmwirkung der maternalen Antikörper so, daß eine wirksame Immunität erzielt werden konnte.

MONREAL (1971) weist auf Schwierigkeiten bei der Vakzination von Küken in der ersten Lebenswoche hin. Er begründet dieses mit mangelnder immunologischer Kompetenz beim Huhn bis zur fünften Lebenswoche.

Bei den Vakzinations-Versuchen von ALLAN (1973) wirken sich die maternalen Antikörper nicht hemmend auf eine erfolgreiche Vakzination aus. Ausgehend von einem hohen Gehalt an maternalen Antikörpern konnte er bei Tieren, die am ersten und vierten Lebenstag spray-vakziniert wurden, einen deutlichen Antikörper-Anstieg erzielen.

SCHULZE-REHM (1973) berichtet über gleichermaßen gute Immunitätsentwicklung bei Tieren, die am 2., 16. und 30. Lebenstag

mit den Impfstämmen La-Sota und Hitchner-B₁ spray-vakziniert werden. Die Tiere wiesen keinen oder nur einen geringen Gehalt an maternalen Antikörpern auf.

Demgegenüber stellen SIGIMURA und MITARBEITER (1970) fest, daß bei Küken mit maternalen Antikörpern und Verwendung des Hitchner-B₁-Stammes nur mit der Spray-Technik eine Antikörper-Bildung zu beobachten ist. Sie konnten unter diesen Bedingungen nach Trinkwasser-Vakzination, intranasaler und conjunctivaler Virusverabreichung keine Antikörper-Bildung nachweisen.

Bei der Beurteilung der Antikörper-Entwicklungen muß unterschieden werden, ob das Tier zum ersten oder bereits zum wiederholten Male mit dem Antigen in Kontakt gekommen ist. Nach WIESMANN (1969) unterscheidet man zwischen Primär- und Sekundär-Reaktionen. Nach der Primär-Reaktion, d.h. Erstinfektion, werden Zellen gebildet, die Träger des sogenannten immunologischen Gedächtnisses sind und bei Sekundär-Reaktionen, d.h. Reinfektion, in größeren Mengen Antikörper zu produzieren vermögen als bei der Erstinfektion. Diese Tatsache findet ihre praktische Ausnutzung bei Wiederholungsvakzinationen und wird als Booster-Effekt bezeichnet.

VIII. Vergleich zwischen Trinkwasser- und Spray-Vakzination

BEARD und EASTERDAY (1967) sprechen sich eindeutig für die Spray-Vakzination aus, die eine bessere immunisierende Wirkung gegenüber der Trinkwasser-Vakzination zeigt. Ebenso weist ROEPKE (1973) in seinen Versuchen auf den Vorteil der besseren Immunitätsentwicklung durch die Spray-Vakzination hin und gibt die Empfehlung, die Trinkwasser-Vakzination bei hohem Infektionsdruck ganz zu verlassen.

Bei Tieren mit maternalen Antikörpern gelang es SIGIMURA und MITARBEITERN (1970) bei Vergleichsuntersuchungen mit der Spray-Methode, nicht jedoch mit der Trinkwasser-Vakzination, eine Immunitätsentwicklung zu erreichen.

Bei Vergleichsuntersuchungen zwischen Spray-, Okulärer- und Trinkwasser-Vakzination, bei denen jedes Tier die gleiche Virusmenge erhielt, stellten GOUGH und ALEXANDER (1973) die höchsten Antikörper-Spiegel und die geringste Mortalität gegenüber Belastungsinfektionen bei der Spray-Vakzination fest. Bereits vier tg.p.v. wies die Spray-Gruppe gegenüber der Testinfektion vollständigen Schutz auf, die Okulär-vakzinierte Gruppe ab sieben tg.p.v., die Tiere der Trinkwasser-Gruppe waren erst ab ca. 15 tg.p.v. vollständig geschützt. Ebenso berichtet WOERNLE (1973) über die schneller eintretenden Schutzwirkungen nach der Spray-Vakzination als nach der Trinkwasser-Vakzination. Er betrachtet deshalb die Spray-Vakzination als besonders geeignet zur Notimpfung. DORN (1974) weist auf die Probleme bei Anwendung der Spray-

Vakzination hin. Es bestehen bei dieser Vakzinationsart eine Reihe technischer Probleme im Zusammenhang mit den verwendeten Geräten, weiterhin physikalisch-chemische Einflüsse von seiten des Suspensionsmediums Wasser.

Daher beschränkt DORN (1974) die Spray-Vakzination ebenfalls auf Notsituationen.

Wenn auch einige Gründe, wie die Verschmutzung der Tränkleitungen und Tränkerinnen, sowie der wechselnde Ionen- und Spurenelementgehalt des Leitungswassers (DORN, 1971) gegen die Trinkwasser-Vaktination sprechen, so darf im Gegensatz dazu der umfangreiche technische Aufwand und die notwendige Sorgfalt bei Anwendung der Spray-Vakzination, wie aus den Versuchen von SCHULZE-REHM (1973) zu entnehmen ist, nicht übersehen werden.

C. Eigene Untersuchungen:

I. Material und Methode

1. Versuchstiere und Versuchstierhaltung

Bei den Versuchstieren handelte es sich zum größten Teil um Hähnchenküken einer kommerziellen Leghornrasse. Unmittelbar nach dem Schlupf wurden diese Tiere in die Versuchsstallungen gebracht.

Die Spray-Versuche an Junghennen und Legehennen wurden in Wirtschaftsbetrieben mit Legetieren weißer Hybridrassen durchgeführt.

Die Aufstallung der Versuchstiere erfolgte in Boden- und Käfighaltung.

Die Fütterung erfolgte mit handelsüblichem Alleinfutter zur freien Aufnahme, die Tränkung über Nippel und Rundtränken.

2. Blutentnahme und Antikörper-Bestimmung im Serum

Die Blutentnahme bei bis zu 14 Tage alten Tieren erfolgte durch Entbluten, später durch Punktieren der Flügelvene (V. ulnaris). Das gewonnene Serum wurde bis zur Untersuchung tiefgefroren. Die Seren wurden im Haemagglutinations-Hemmungstest (HAH), β -Methode im Mikrotiterverfahren untersucht.

Es wurde ein Antigen mit vier haemagglutinierenden Einheiten vom Stamm La-Sota und eine 1 %-ige Erythrocyten-suspension verwendet.

Die Haemagglutinationshemmung auf den Mikrotiterplatten wurde 45 Minuten nach Testbeginn bei 20 °C mit Hilfe eines untergelegten Spiegels abgelesen.

Die so ermittelten Titer werden nach folgendem Schema in Titerkennzahlen ausgedrückt (SIEGMANN und MITARBEITER, 1973):

<u>Titer</u>		<u>Titerkennzahlen</u>
1:1	=	0
1:1	=	1
1:2	=	2
1:4	=	3
1:8	=	4
1:16	=	5
1:32	=	6
1:64	=	7
1:128	=	8
1:256	=	9

Pro Versuchsgruppe gelangten mindestens 25 Seren zur Untersuchung.

In Legeherden wurde der Haemagglutinations-Hemmungstest an 30 Eiern jeder Versuchsgruppe durchgeführt. Auch hierzu wurde die β -Methode des HAH-Testes im Mikrotiterverfahren angewendet, um die Eidotter auf Newcastle-Antikörper in der von DORN und WESSLING (1973) mitgeteilten Technik zu untersuchen.

Im Versuchsverlauf wurden alle Tiere gesondert auf Antikörper gegen IB und CELO in der Agargel-Präzipitation und auf Mycoplasma Gallisepticum in der Serum-Agglutination untersucht.

Von jeder Versuchsreihe wurden die Mittelwerte, sowie die Streuungen der Titerkennzahlen im Bereich einer Probeentnahme errechnet. Für die statistische Absicherung der Werte wurde der sog. t-Test (OTTO, 1958) durchgeführt, um die Signifikanz, d.h. die statistisch gesicherten Unterschiede von zwei Mittelwertep darzustellen. Die statistische Sicherung zweier Werte gegeneinander werden durch p-Werte ausgedrückt.

3. Vakzinen und Vakzination

Für die Versuche wurden die handelsüblichen Hitchner-B₁-Trinkwasser-Vakzinen mit einem Virusgehalt von $10^{8,35}$ EID₅₀/ und $10^{9,0}$ EID₅₀/1000 Dosen, je nach Herstellungscharge, benutzt. Der Virusgehalt der La-Sota-Trinkwasser-Vakzine lag bei $10^{9,0}$ EID₅₀/1000 Dosen.

Nach eigenen Untersuchungen betrugen die neuropathogenen Indices (Hanson-Test) für den Stamm Hitchner-B₁ 0,0 und 0,037 und beim Stamm La-Sota 0,1.

In allen Versuchen wurde die Vakzine in Leitungswasser suspendiert. Die Vakzine-Dosierung errechnete sich für die meisten Versuche aus den vom Hersteller angegebenen Werten für die Trinkwasser-Vakzination.

4. Testinfektion

Nach Beendigung der Laborversuche wurde an jeweils 10 bis 20 Tieren eine Testinfektion durchgeführt. Als Kontrolltiere dienten jeweils nicht vakzinierter Gruppen gleichen Alters, die in Isolierstallungen mit Schwebstoff gefilterter Zuluft gehalten wurden.

Diese Kontrolltiere hatten keinen serologisch nachweisbaren Newcastle-Antikörper-Titer.

Zur Testinfektion wurde der velogene Stamm Italien, mit einem Virusgehalt von $10^{8,85}$ EID₅₀/0,1 ml und einem neuropathogenen Index von 0,2 verwendet.

Pro Tier wurden zur Testinfektion insgesamt 1,0 ml einer 1:10 verdünnten Allantoisflüssigkeit in gepufferter Natriumchlorid-Lösung verabreicht. Die Gesamtmenge von 1,0 ml wurde zu 0,5 ml oral und 2 x 0,25 ml nasal eingegeben. Die Testinfektionen erfolgten in einem Isolierstall.

5. Technische Daten der verwendeten Spray-Geräte

Für die Spray-Versuche standen insgesamt vier Geräte zur Verfügung. Bei diesen Geräten lassen sich vier verschiedene Arbeitsprinzipien unterscheiden:

a) Kolbenrückenspritze (Fa. Gloria) - Druckbehälterprinzip
Dieses manuell betriebene Gerät wird vornehmlich zum Spritzen von Obstbäumen und im Weinbau eingesetzt. In dem auf dem Rücken zu tragenden Vorratsbehälter mit einem Fassungsvermögen von 10 l wird von Hand über ein Pumpkolbensystem im Druckbehälter ein Überdruck erzeugt. Dieser treibt die Flüssigkeit über eine Schlauchleitung in ein allseitig schwenkbares Sprührohr mit Handhahn. Bei den Spray-Versuchen wurde die dem Gerät mitgelieferte Düse mit einer Bohrung von 0,87 mm verwendet. Die aus der Düse austretende Flüssigkeit wird in Form eines Sprays kegelförmig 1,5 m weit versprüht. Dieses Gerät wurde zusätzlich noch mit einem Druckregler in der Schlauchleitung und einem nachgeschalteten Manometer versehen.

Der Druckregler wurde auf zwei atü eingestellt, da sich dieser Druck durch Nachpumpen lange aufrecht erhalten ließ.

b) Atomist (Fa. Root und Lowell) - Zerstäuberprinzip

Bei diesem mit Netzstrom betriebenen Standgerät wird über ein Gebläse aus dem Vorratsbehälter mit einem Fassungsvermögen von ca. 4 l die Flüssigkeit über ein Steigrohr angesaugt. Diese Flüssigkeit wird durch den erzeugten Luftstrom in kleine Tröpfchen zerteilt und durch eine Öffnung, die in ihrem Durchlaßvermögen regulierbar ist, ca. 6 m weit in Form eines engen Sprühstrahles ausgeworfen.

c) Turbair (Fa. Saci) - Propellerprinzip

Bei dem elektrisch betriebenen Gerät tropft die aus dem 1 l fassenden Vorratsbehälter befindliche Flüssigkeit von hinten gegen einen rotierenden Propeller, der die Flüssigkeit zerreißt. Das entstehende Wasser-Luft-Gemisch wird in Form eines stumpfen Kegels von ca. 160 ° ca. 4 m weit ausgeworfen. Dieses Spray-Gerät muß mit der Hand gehalten werden.

d) Mikrojet (Fa. Defensor) - Schleudertellerprinzip

Bei diesem nach dem Schleudertellerprinzip arbeitenden Gerät wird durch eine Saugpumpe aus dem ca. 2 l fassenden Vorratsbehälter Flüssigkeit vor eine schnell rotierende Scheibe gebracht. Hier wird die Flüssigkeit zerrissen und durch die erzeugte Turbulenz der rotierenden Scheibe mit Luft gemischt. Das so entstandene Gemisch wird durch eine Düse geleitet und 16 bis 18 m weit in Form eines engen Sprühstrahles ausgeworfen.

Dieses Standgerät findet wegen der großen Auswurfweite zur Desinfektion von Stallungen und Lagerräumen Verwendung.

6. Tröpfchengrößenbestimmung

Die Hersteller der Kolbenrückenspritze machen keine Angaben über die Tröpfchengröße.

Das Zerstäubergerät Atomist soll nach Firmenangaben eine Tröpfchengröße von maximal 80 Mikron erreichen.

Ebenfalls keine Angaben von seiten des Herstellers lagen für das Gerät Turbair vor.

Das Schleudertellergerät Mikrojet soll nach Firmenangaben Tröpfchen mit einer Größe unter 50 Mikron auswerfen.

Bei allen Geräten wurden die Größen der ausgeworfenen Tröpfchen mit folgender Versuchstechnik untersucht:

Auf einen Objektträger wurde ein ca. 5 mm hoher Ring mit 2 mm Wandstärke aus Hartplastik mit einem Innendurchmesser von 15 mm geklebt. In den so entstandenen Innenraum wurde zum Auffangen der Tröpfchen 2 bis 3 mm hoch klares Silikonöl gegeben. Die obere Öffnung des Ringes wurde mit einem Objektträger abgedeckt.

Der Spraystrahl eines jeden Gerätes wurde in einem Winkel von ca. 30° auf den oben beschriebenen Versuchsaufbau gerichtet. Der abdeckende Objektträger wurde kurzzeitig entfernt, so daß Tröpfchen aus dem Spraystrahl auf das Silikonöl fallen konnten. Unmittelbar nach dem Auffangen der Tröpfchen wurde die Größenbestimmung mit Hilfe eines Mikroskops mit Meßokular (Fa. Leitz) vorgenommen.

Das Silikonöl verhinderte das Konfluieren und Verdunsten der Wassertröpfchen. Durch wiederholtes Auffangen von Tröpfchen unter denselben Bedingungen wurden je Gerät 400 Tröpfchen ausgemessen und als Verteilungsmuster graphisch dargestellt.

II. Ergebnisse

Versuch 1: Tröpfchengrößen und Auswurfmengen der geprüften Spray-Geräte.

Nach der unter Material und Methoden beschriebenen Versuchstechnik wurde die Tröpfchengröße und Auswurfmenge der Spray-Geräte bestimmt. Es ergab sich für die Kolbenrückspritzte mit der Düsenbohrung von 0,87 mm bei 800 Messungen ein Streubereich der Einzeltröpfchen von 10 bis 340 Mikron.

In Abbildung 1 sind die Größenverhältnisse der Tröpfchen aus dem Zentrum und der Randzone des Spraystrahles getrennt dargestellt.

Die Darstellung zeigt, daß Zentrum und Randzone des Spraykegels eine unterschiedliche Tröpfchengrößenverteilung aufweisen.

Im Zentrum liegt die Hauptmenge der Tröpfchen im Bereich 30 bis 80 Mikron, in der Randzone im Bereich 170 bis 240 Mikron. Dieses unterschiedliche Verteilungsmuster kommt bei der Zusammenfassung der Ergebnisse in einer zweigipfiligen Säulendarstellung (Abb. 1a) zum Ausdruck.

Zum Versprühen von 500 ml Wasser wurden mit der Kolbenrückspritzte 1 Minute und 44 Sekunden benötigt.

Abbildung 2 zeigt die Tröpfchengrößenverteilung des Zerstäubergerätes Atomist. Von den bei dem Gerät möglichen Einstellungen wird in dieser Abbildung die in den eigenen Versuchen verwendete Einstellungsstufe 2 dargestellt,

da in Vorversuchen die anderen Einstellmöglichkeiten bei diesem Gerät nur eine unwesentliche Änderung der Tröpfchengröße ergaben. Dieses Gerät gibt ein enges Verteilungsmuster der Tröpfchengrößen. Der Hauptanteil der ausgemessenen Tröpfchen liegt zwischen 20 bis 60 Mikron. Bei der Einstellungsstufe 2 wurden mit diesem Gerät 8 Minuten und 44 Sekunden benötigt, um 500 ml Wasser zu zerstäuben.

Abbildung 3 zeigt die Tröpfchengrößenverteilung des Propellergerätes Turbair. Auch dieses Gerät gibt ein enges Verteilungsmuster der Tröpfchengröße. Die überwiegende Zahl der ausgemessenen Tröpfchen liegt im Bereich von 10 bis 50 Mikron. Mit diesem Gerät wurden in 5 Minuten und 57 Sekunden 500 ml Wasser versprüht.

Das Schleudertellergerät Mikrojet wurde bei 2 von insgesamt 10 verschiedenen Einstellungen geprüft.

Abbildung 4 und 4a zeigen die Tröpfchengrößenverteilungen bei Einstellung 3 und 10. Beide Einstellungen zeigen ein sehr enges Verteilungsmuster, bei dem ca. 70 % der ausgemessenen Tröpfchen im Bereich von 1 bis 40 Mikron liegen. Eine wesentliche Verschiebung der Tröpfchengrößen konnte mit unterschiedlichen Einstellungen, ebenso wie beim Zerstäubergerät Atomist, nicht beobachtet werden. Es fällt jedoch auf, daß mit Einstellung 3 ein etwas höherer Anteil relativ kleiner Tröpfchen, als mit Einstellung 10 erzielt werden kann. Deutliche Unterschiede bestehen jedoch in der Auswurfmenge bei unterschiedlicher Einstellung.

Bei Einstellung 3 wurden 2 Minuten und 58 Sekunden,
bei Einstellung 10 nur 58 Sekunden benötigt, um 500 ml
Wasser zu zerstäuben.

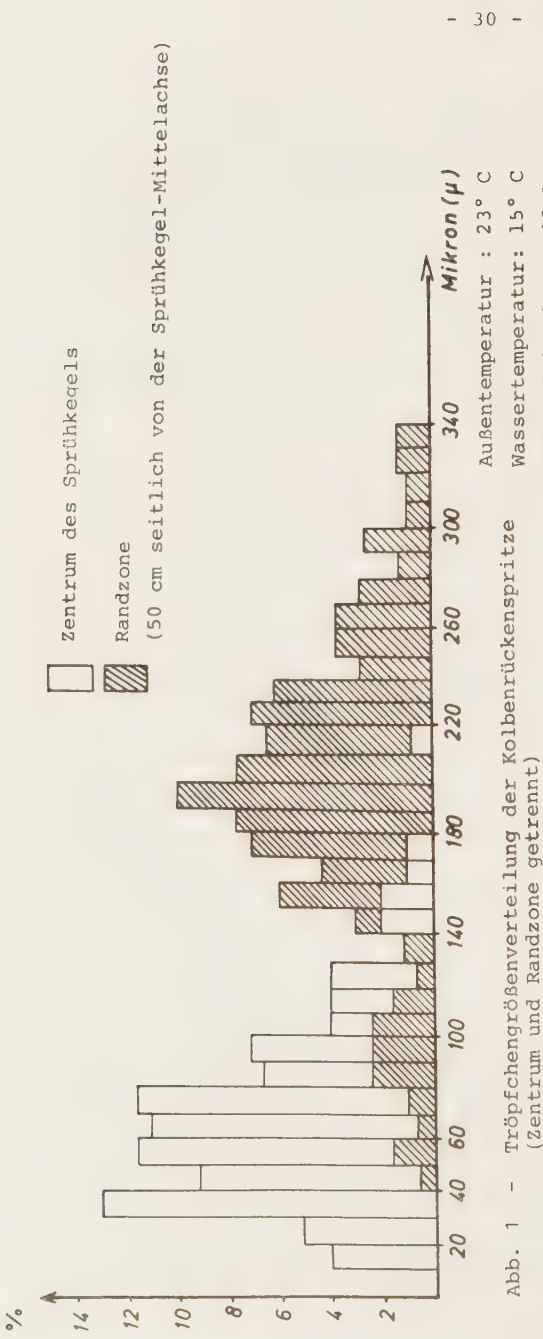


Abb. 1 - Tröpfchengrößenverteilung der Kolbenrückenspritze
(Zentrum und Randzone getrennt)

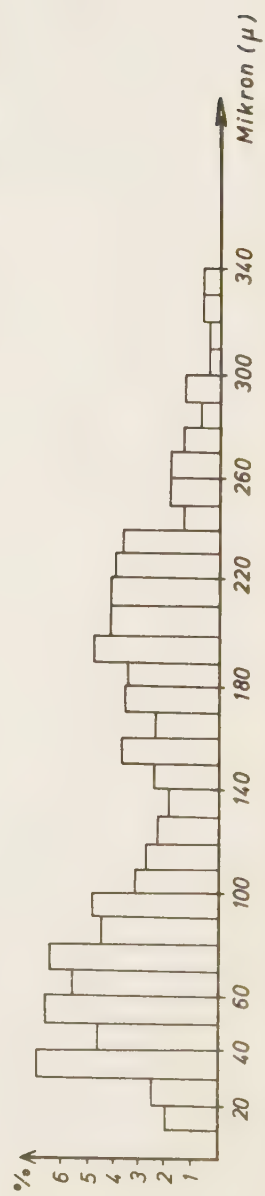


Abb. 1a - Tröpfchengrößenverteilung der Kolbenrückenspritze
(Zentrum und Randzone zusammengefaßt)

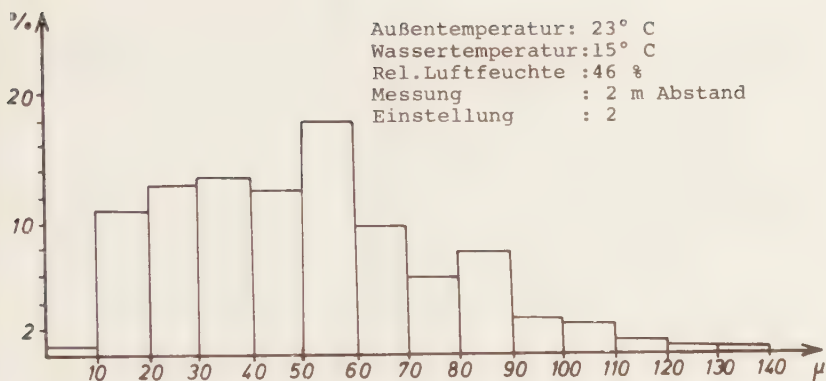


Abb. 2 - Tröpfchengrößenverteilung des Zerstäubergerätes (Atomist)

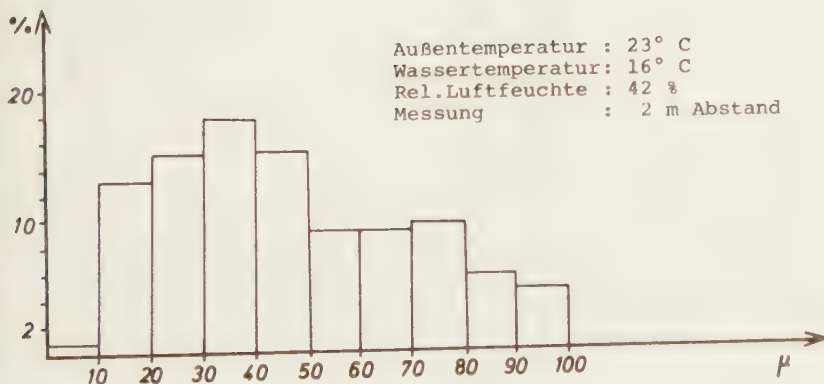


Abb. 3 - Tröpfchengrößenverteilung des Propellergerätes (Turbair)

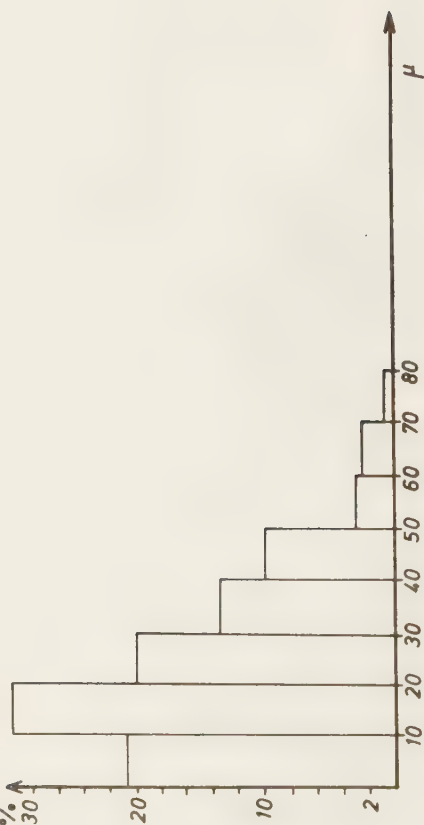


Abb. 4 - Tröpfchengrößenverteilung des Schleudertellergerätes
(Mikrojet-Einstellung 3)



Außentemperatur : 23° C
Wassertemperatur : 16° C
Rel. Luftfeuchte : 42 %
Messung : 2 m Abstand

Versuch 2: Antikörper-Entwicklung nach einmaligem Einsatz
verschiedener Geräte.

In diesem Versuch wurde die Antikörper-Entwicklung nach
Einsatz folgender Geräte geprüft:

- a) Kolbenrückenspritze Gloria
- b) Zerstäubergerät Atomist
- c) Propellergerät Turbair
- d) Schleudertellergerät Mikrojet - Einstellung 3
Mikrojet - Einstellung 10

Versuchsvoraussetzungen:

Alter der Tiere	:	12 Tage - Legetyp
Impfstamm	:	Hitchner-B ₁ (Op.Nr. 1097B)
Konzentration	:	1000 Dosen in 1000 ml Wasser
Impfdosis	:	$10^{6,0}$ EID ₅₀ /Tier
Antikörper-Titer am		
Spraytag	:	negativ
Sprayzeiten	:	Gloria - 5,7 sec.
	:	Atomist - 30,3 sec.
	:	Turbair - 21,4 sec.
	:	Mikrojet - 10,7 sec. - Einst. 3
	:	Mikrojet - 3,5 sec. - Einst. 10

Die einzelnen Versuchsgruppen wurden getrennt voneinander
spray-vakziniert. Jedes Tier erhielt die gleiche Vakzine-Dosis.

Nach der Vakzination wurden die Tiere laufend beobachtet und im siebentägigen Turnus Blut für den Antikörper-Nachweis im Serum entnommen.

Ergebnis:

Tabelle 1 zeigt die Mittelwerte der Titerkennzahlen bei den einzelnen Blutentnahmen nach der Vakzination, Abb. 5 die graphische Darstellung der Titerverlaufskurven und Tab. 2 die statistische Auswertung dieses Versuches. Bei dieser statistischen Auswertung werden die mit den verschiedenen Geräten erzielten Antikörper-Titer gegeneinander verglichen und auf ihre statistische Signifikanz untersucht. Keine Unterschiede der einzelnen Antikörper-Entwicklungen bestehen am 7.tg.p.v.. Erst am 14.tg.p.v. sind deutlich differente Antikörper-Spiegel mit Mittelwerten von Titerkennzahl 1,48 bis 3,68 festzustellen. Die Differenz dieser Werte ist laut Tab. 3 zum Teil statistisch hoch gesichert.

Am 21. und 28.tg.p.v., also am 33. und 40. Lebenstag waren die Werte weitgehend einander angeglichen.

Bei diesem Versuch zeigte sich in der Antikörper-Entwicklung ein bedeutender Unterschied sowohl zwischen der Gloria-und Atomist-Gruppe, als auch zwischen der Gloria- und den Mikrojet-Gruppen (Einstellung 3 und 10).

Bei diesem Gerätevergleich ergaben sich im Versuchsverlauf am 14. und 28.tg.p.v. statistisch unterschiedliche Werte.

Im Verlauf dieses Versuches wurden bei keiner spray-vakzinierten Gruppe klinische Erscheinungen beobachtet. Die am 29.tg.p.v. durchgeführte Testinfektion ergab bei den spray-vakzinierten Gruppen einen vollständigen Schutz gegenüber einer massiven, künstlichen Infektion. Die testinfizierten Kontrolltiere verendeten alle innerhalb von 6 Tagen p.i.. Die Einzelangaben dieser Testinfektion sind in Tab. 3 zusammengefaßt.

Gruppe	7 Tg.p.v.	14 Tg.p.v.	21 Tg.p.v.	28 Tg.p.v.
Gloria	0,88	1,48	3,24	3,13
Atomist	0,40	3,52	3,68	3,84
Turbair	0,64	1,56	3,60	3,48
Mikrojet (Einst. 3)	0,40	2,40	3,36	3,64
Mikrojet (Einst.10)	0,40	3,68	3,92	3,76

Tabelle 1 - Mittelwerte der Titerkennzahlen nach der Spray-Vakzination

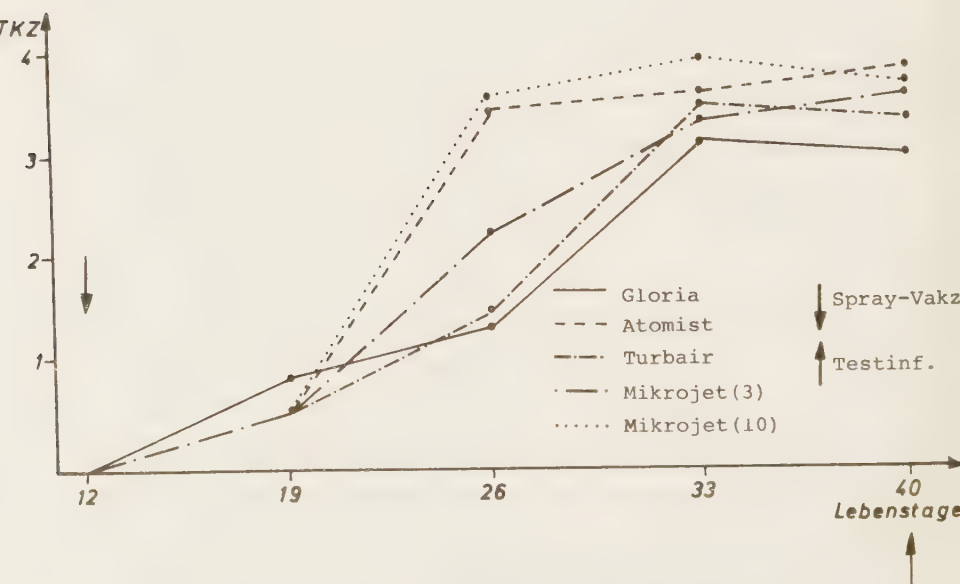


Abb. 5 - Vergleichende Darstellung der Antikörper-Entwicklung bei 5 verschiedenen Spraytechniken

Gerätevergleich	Tage p.v.			
	7	14	21	28
Gloria : Atomist	-	+	-	+++
Gloria : Turbair	-	-	-	-
Gloria : Mikrojet (3)	-	+++	-	+
Gloria : Mikrojet (10)	-	+++	-	+
Atomist : Turbair	-	+++	-	-
Atomist : Mikrojet (3)	-	++	-	-
Atomist : Mikrojet (10)	-	-	-	-
Turbair : Mikrojet (3)	-	-	-	-
Turbair : Mikrojet (10)	-	++	-	-
Mikrojet: Mikrojet (3) (10)	-	++	-	-

Tabelle 2 - Statistische Auswertung der spray-vakzinierten Gruppen

- = $p > 0,05$ (nicht gesichert)
 + = $p < 0,05$
 ++ = $p < 0,01$
 +++ = $p < 0,001$

Gruppe	überlebende Tiere / testinf. Tiere
Gloria	19/20 *
Atomist	20/20
Turbair	20/20
Mikrojet 3	20/20
Mikrojet 10	20/20
Kontrollen	0/20

* Todesfall durch Erdrücken

Tabelle 3 - Ergebnisse der Testinfektion 10 Tg.p.i.

Versuch 3: Verfolgungsuntersuchung bei wiederholter Spray-Vakzination mit jeweils gleichem Gerät.

In diesem Versuch soll untersucht werden, wie sich der Titerverlauf bei zweimaliger Wiederholung (nach zwei und fünf Wochen) der Spray-Vakzination verhält.

Versuchsvoraussetzungen:

Alter der Tiere	: 8 Tage - Legetyp
Impfstamm	: La-Sota (Op.Nr. 13D)
Konzentration	: 1000 Dosen in 1000 ml Wasser
Impfdosis	: $10^{6,0}$ EID ₅₀ /Tier
Antikörper-Titer am	
Spraytag	: Titerkennzahl 1,2
Sprayzeiten	: Atomist 122 sec. (Gr. A)
	: Gloria 18 sec. (Gr. G)

Insgesamt wurden bei der ersten Spray-Vakzination 90 Tiere geimpft. Für die Wiederholungsvakzinationen wurden nur 45 Tiere verwendet. Die restlichen Tiere wurden für den vierten Versuch mit Gerätetausch benutzt.

Ergebnis:

Tabelle 4 zeigt die Mittelwerte der Titerkennzahlen nach erster, zweiter und dritter Spray-Vakzination mit den Geräten Gloria und Atomist. Abbildung 6 zeigt die graphische Darstellung des Titerverlaufes bis zum 85. Lebenstag. In Tab. 5 werden die mit den beiden Geräten erzielten Antikörper-Titer jeweils im Vergleich maternale Antikörper

zu Antikörper-Anstieg nach erster Vakzination, sowie Antikörper-Anstieg von erster zu zweiter und zweiter zu dritter Vakzination statistisch ausgewertet. Die mit den beiden Geräten erreichten Titerkennzahlen sind in Tab. 4 miteinander verglichen. Es ergaben sich keine signifikant unterschiedlichen Werte zwischen beiden Geräten. Dieses zeigt auch die graphische Darstellung mit fast gleichem Kurvenverlauf. Besonders auffallend ist der steile Anstieg nach der ersten Spray-Vakzination, die auf Tiere mit einem geringen Gehalt an maternalen Antikörpern traf. Die zweite Vakzination ergab nur bei der Atomist-Gruppe einen statistisch signifikant höheren Antikörper-Anstieg.

Bei beiden Geräte-Gruppen führte die dritte Vakzination zu keiner Erhöhung des Antikörper-Gehaltes im Serum.

Bei der Atomist-Gruppe traten vier Tage nach der ersten Spray-Vakzination bei zwei Tieren für die Dauer von drei Tagen leichte Atemgeräusche auf.

Tab. 7 zeigt die Ergebnisse der Testinfektion vor der zweiten, dritten und drei Wochen nach der dritten Spray-Vakzination. Bei allen Testinfektionen zeigte sich ein vollständiger Schutz der Impflinge gegenüber einer Belastungsinfektion. Die Kontrolltiere verendeten jeweils fünf bis acht Tage nach der Testinfektion.

Gruppe	MAK	Tage nach der 1. Vakz.		Tage nach d. 2. Vakz.					Tage nach d. 3. Vakz.			
		7	14	7	14	21	28	35	7	14	21	28
A	1,2	2,38	4,33									
				5,01	3,84	3,56	3,30	2,72				
									2,29	2,50	1,76	1,50
G	1,2	2,72	4,80									
				5,05	3,64	3,63	3,32	2,80				
									2,04	2,45	1,44	1,50

Tabelle 4 - Mittelwerte der Titerkennzahlen nach den einzelnen Spray-Vakzinationen

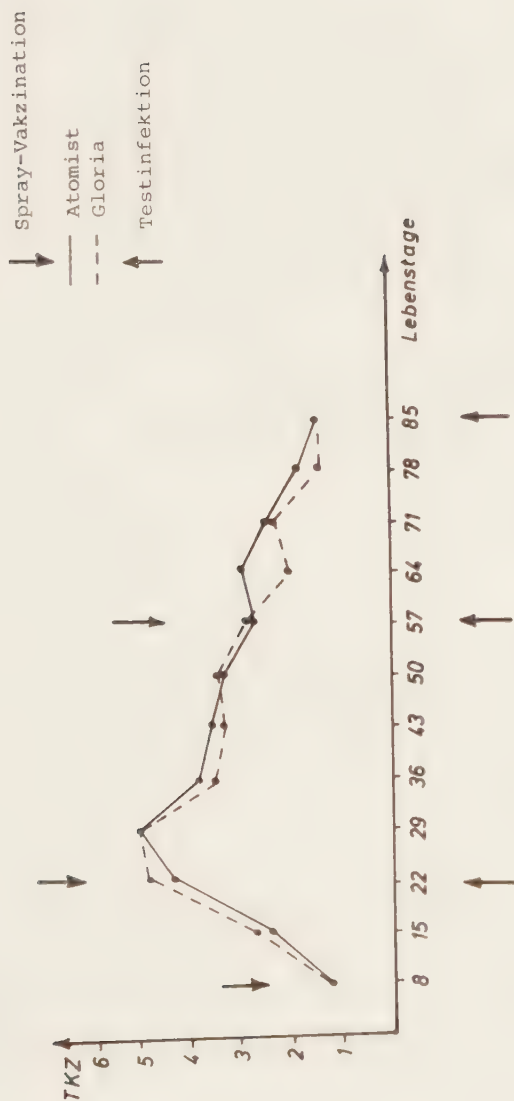


Abb. 6 - Vergleichende Darstellung der Antikörper-Entwicklung bei zweimaliger Wiederholung der Spray-Vakzination mit dem gleichen Gerät

Gruppe	Vergleich	Tage p.v.		
		7	7	7
A	MAK :1.Vakz.	++		
	1.Vakz.:2.Vakz.		+	
	2.Vakz.:3.Vakz.			-
G	MAK :1.Vakz.	+++		
	1.Vakz.:2.Vakz.		-	
	2.Vakz.:3.Vakz.			-

Tabelle 5 - Statistische Auswertung der einzelnen Spraygruppen

- = $p > 0,05$ (nicht gesichert)
+ = $p < 0,05$
++ = $p < 0,01$
+++ = $p < 0,001$

Gruppe	Testinfektion			
	vor 2.Spray	vor 3.Spray	4 Wo.nach 3.Spray	Versuchsende
A	25/25 *			
G	25/25			
AA		10/10		
GG		10/10		
AAA			10/10	
GGG			10/10	
Kontrolle	0/20	0/10	0/10	0/10

* überlebende Tiere/testinf. Tiere

Tabelle 7 - Ergebnisse der Testinfektion 10 Tg. p.i.

Versuch 4: Zweimalige Spray-Vakzination mit Wechsel
der Geräte.

An jeweils 45 Tieren wurden in diesem Versuch 14 Tage nach
der ersten Spray-Vakzination die Wiederholungsvakzination
mit ausgewechselten Geräten durchgeführt.

Versuchsvoraussetzungen:

Alter der Tiere	:	22 Tage - Legetyp
Impfstamm	:	La-Sota (Op.Nr. 13 D)
Konzentration	:	1000 Dosen in 1000 ml Wasser
Impfdosis	:	$10^{6,0}$ EID ₅₀ /Tiere
Antikörper-Titer am Spray- tag, nach 14 Tage zurück- liegendem ersten Spray		
	(Gerät Atomist):	Titerkennzahl Gr. A 4,33
	(Gerät Gloria) :	Titerkennzahl Gr. G 4,80
Sprayzeiten (2. Spray)	:	Atomist 61 sec.
	:	Gloria 9 sec.

Die zweite Spray-Vakzination erhielten die Tiere 14 Tage
nach der ersten Spray-Vakzination mit ausgewechselten Ge-
räten, d.h. die bisherige Gruppe Atomist (Gr. A) wurde mit
dem Spraygerät Gloria und die bisherige Gruppe Gloria (Gr. G)
mit dem Spraygerät Atomist nachvakziniert.

Ergebnis:

Tabelle 8 zeigt die Mittelwerte der Titerkennzahlen beider Geräte-Gruppen bis zum 126. Versuchstag (148. Lebenstag), Abb. 7 gibt die graphische Darstellung des Titerverlaufes wieder.

Wie bereits der Vergleich der Mittelwerte und noch deutlicher die graphische Darstellung zeigt, konnte kein signifikant höherer Antikörper-Wert durch den Wechsel der Geräte erzielt werden. Beide Gruppen zeigen einen annähernd gleichen Kurvenverlauf und nähern sich bis zum 148. Lebenstag langsam der Abszisse. Die zwischen 57. und 78. Lebenstag auftretenden Unregelmäßigkeiten im Kurvenverlauf -KURVENANSTIEG und KURVENABFALL- liegen im Bereich der Streuung.

Die aus der graphischen Darstellung sich ergebenden Unterschiede der beiden Kurven sind gegeneinander nicht gesichert. Auf eine tabellarische Darstellung dieser statistischen Auswertung wurde deshalb verzichtet.

Im gesamten Versuchsverlauf traten keine klinischen Erscheinungen bei den spray-vakzinierten Tieren auf.

Tabelle 9 zeigt die Ergebnisse der Testinfektionen. Am 35. und 98. tg.p.v. verwendete jeweils ein Tier der Gruppe AG. Die Kontrolltiere verwendeten bei jeder Testinfektion innerhalb von sieben Tagen.

		Tage p.v.													
Gruppe	O-Wert	7	14	21	28	35	42	49	56	63	70	84	98	112	126
AG	4,33	5,16	4,04	3,76	3,36	2,88	2,44	2,60	1,90	1,60	2,06	1,95	1,30	1,00	1,00
GA	4,80	5,33	4,49	3,64	3,12	2,84	3,12	2,48	2,44	2,80	2,50	2,30	1,60	1,60	1,40

Tabelle 8 - Mittelwerte der Titerkennzahlen nach der Sprayvakuination mit Gerätetausch

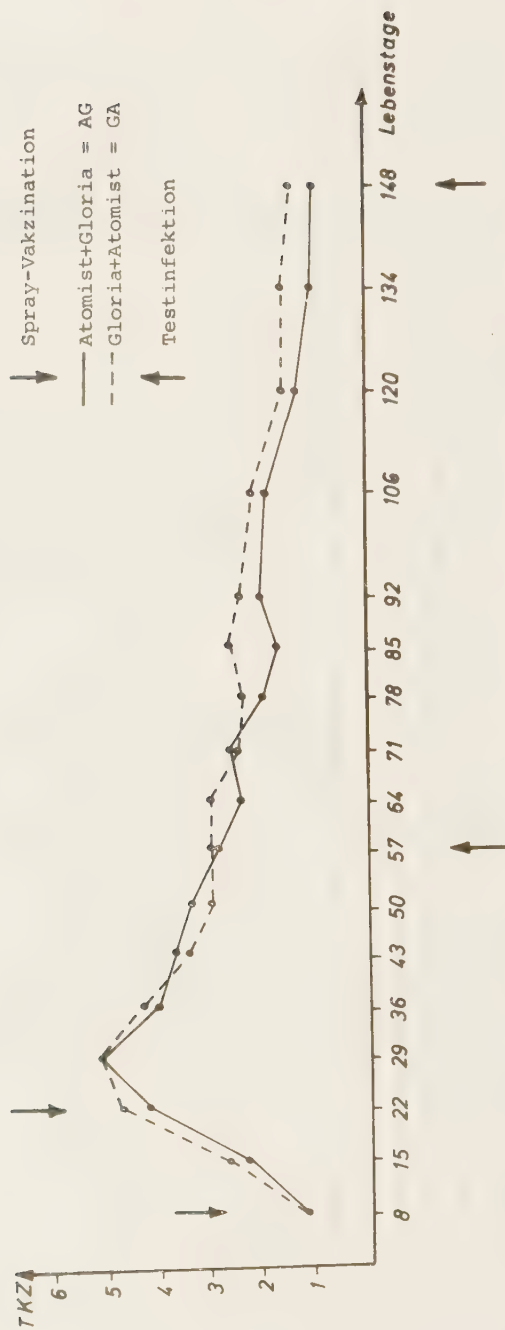


Abb. 7 - Vergleichende Darstellung der Antikörper-Entwicklung bei Wiederholung der Spray-vakzination mit Austausch der Geräte

Gruppe	überlebende Tiere / testinf. Tiere	
	35 Tage p.v.	98 Tage p.v.
AG	9/10	9/10
GA	10/10	10/10
Kontrolle	0/10	0/10

Tabelle 9 - Ergebnisse der Testinfektionen
10 Tg. p.i.

Versuch 5: Spray-Vakzination mit verschiedener Vakzine-Konzentration und verschiedenen Spray-Auswurf-mengen bei zwölf Tage alten Küken.

In diesem Versuch wurde geprüft, ob serologisch meßbare Reaktionen durch eine Erhöhung der Virusmenge im Spray-volumen, oder durch eine Erhöhung des Sprayvolumens bei gleichbleibender Virusmenge erzielt wird.

Es kam das Zerstäubergerät Atomist zum Einsatz. Die Gruppen bestanden aus je 35 Tieren.

Versuchsvoraussetzungen:

Alter der Tiere	: 12 Tage - Legetyp
Impfstamm	: Hitchner-B ₁ (1097B)
Konzentration	: Gr. A 1000 Dosen in 250 ml Wasser
	: Gr. B 10000 Dosen in 250 ml Wasser
	: Gr. C 1000 Dosen in 1000 ml Wasser
	: Gr. D 1000 Dosen in 10000 ml Wasser
Impfdosis	: Gr. A $10^{6,0}$ EID ₅₀ /Tier
	: Gr. B $10^{7,0}$ EID ₅₀ /Tier
	: Gr. C $10^{6,0}$ EID ₅₀ /Tier
	: Gr. D $10^{6,0}$ EID ₅₀ /Tier
Antikörper-Titer am	
Spraytag	: Titerkennzahl 1,54
Sprayzeiten	: Gr. A 8,85 sec.
	: Gr. B 8,85 sec.
	: Gr. C 35,3 sec.
	: Gr. D 353 sec.

Ergebnis:

In Tabelle 10 sind die Mittelwerte der Gruppen A bis D vom 7. bis zum 42. tg.p.v. zusammengefaßt; Abbildung 8 zeigt den Kurvenverlauf der durchschnittlichen Titerkennzahlen der vier verschiedenen spray-vakzinierten Gruppen.

In Tabelle 11 wird die Antikörper-Entwicklung solcher Gruppen miteinander verglichen und statistisch ausgewertet (Gr. A, C und D), die pro Tier dieselbe Vakzine-Dosis, jedoch in unterschiedlicher Wassermenge suspendiert, erhielten. Zusätzlich wurden die beiden Gruppen miteinander verglichen (A und B), die in gleicher Wassermenge unterschiedliche Vakzinekonzentration erhielten.

Die spray-vakzinierten Gruppen A, C und D zeigen am 7.tg.p.v. noch keinen Anstieg des Antikörper-Gehaltes. Nur der Mittelwert von Gruppe B liegt deutlich über dem Ausgangswert.

14 tg.p.v. ist auch bei Gr. A und 21. tg.p.v. auch bei Gr. C und D ein Antikörper-Anstieg zu verzeichnen. Am 42. tg.p.v. sinken alle durchschnittlichen Titerkennzahlen wieder ab.

Die graphische Darstellung zeigt die Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen.

Bei der statistischen Auswertung der Einzelwerte zeigt sich ein besonders deutlicher Unterschied zwischen den Gruppen A und D.

Bei gleicher Vakzine-Dosis pro Tier erhielt die Gr. D die Vakzine in der 40-fachen Wassermenge im Vergleich zu Gr. A suspendiert. Die Gr. D erbrachte über die gesamte Versuchsperiode von 42 Tagen im Vergleich zu Gr. A signifikant erniedrigte Titer.

Mit dem zehnten Teil der bei Gr. D (10000 ml) eingesetzten Wassermenge wurden bei Gr. C (1000 ml) über einen wesentlichen Zeitraum der Versuchsperiode hinaus signifikant bessere Antikörper-Titer erzielt. Eine weitere Erniedrigung der Wassermenge bei Gr. A führt nur zu einem unwesentlichen Titeranstieg, der nur am 14. tg.p.v. im Vergleich zur Gr. C einen statistisch gesicherten Unterschied ergibt.

Bei gleicher Wassermenge der Gr. A und B bringt die Gr. B mit der zehnfach höheren Viruskonzentration vorübergehend signifikant höhere Titer.

Bei keiner Versuchsgruppe traten im Versuchsverlauf klinische Erscheinungen auf.

Die Ergebnisse der am 42. tg.p.v. durchgeführten Testinfektion sind in Tab. 12 zusammengefaßt.

Bei Gr. A, B und C ergab sich ein vollständiger Schutz gegenüber der Testinfektion.

Die Antikörper-Spiegel dieser Tiere lagen am Versuchsende zwischen Titerkennzahl 1,9 bis 2,5.

Gruppe D zeigte innerhalb von sieben Tagen nach der Testinfektion eine 30 %-ige Mortalität. Bei dieser Gruppe lag der Antikörper-Titer am Versuchsende mit Titerkennzahl 0,9 deutlich unter dem Wert der maternalen Antikörper vor der Spray-Vakzination.

Die Kontrolltiere verendeten alle innerhalb von sechs Tagen.

Gruppe	O-Wert	Tage p.v.			
		7	14	21	42
A	1,54	1,44	2,88	3,12	1,90
B		2,24	3,68	3,12	2,50
C		1,36	1,56	2,88	2,00
D		0,64	1,45	1,80	0,80

Tabelle 10 - Mittelwerte der Titerkennzahlen nach Spray-Vakzinationen mit verschiedener Vakzine-Konzentration und verschiedenen Wassermengen

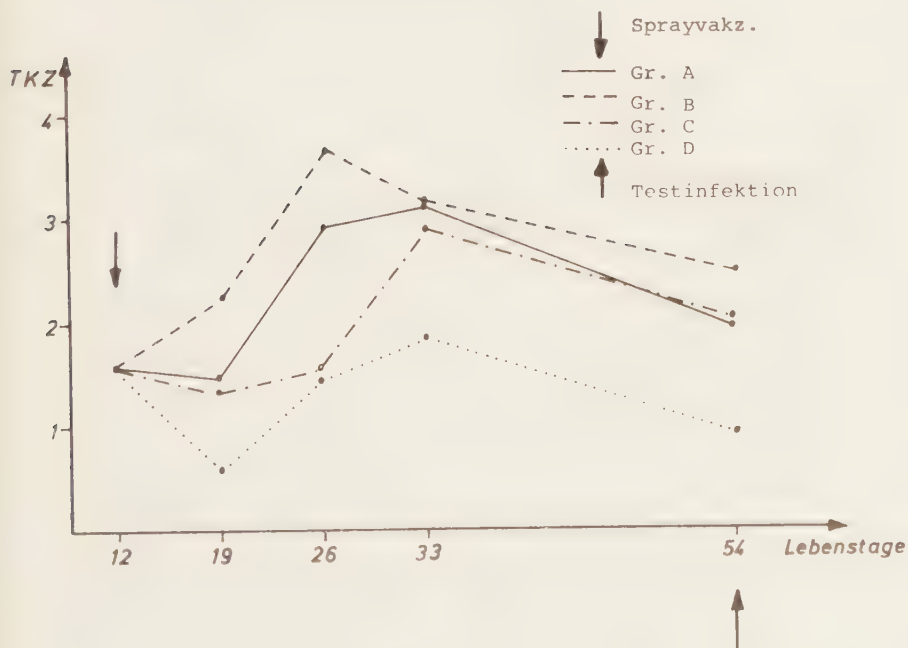


Abb. 8 - Vergleichende Darstellung der Antikörper-Entwicklung nach Spray-Vakzinationen mit verschiedener Vakzine-Konzentration und verschiedenen Wassermengen

Gruppen			Tage p.v.			
	Wassermg.	Vakz.-Konz.	7	14	21	42
A : C	1 : 4	1 : 1	-	+++	-	-
C : D	1 : 10	1 : 1	+	-	++	+
A : D	1 : 40	1 : 1	++	++	+++	+
A : B	1 : 1	1 : 10	++	++	-	-

Tabelle 11 - Statistischer Vergleich der Antikörper-Entwicklung in Abhängigkeit von unterschiedlicher Wassermenge und Vakzine-Konzentration

- = $p > 0,05$ (nicht gesichert)

+ = $p < 0,05$

++ = $p < 0,01$

+++ = $p < 0,001$

Gruppe	Testinfektion am Versuchsende überlebende Tiere / testinf. Tiere
A	10/10
B	10/10
C	10/10
D	7/10
Kontrolle	0/10

Tabelle 12 - Ergebnisse der Testinfektion 10 Tg. p.i.

Versuch 6: Spray-Vakzinationen mit verschiedener Vakzinekonzentration und verschiedenen Spray-Auswurfmengen bei zehn Wochen alten Hähnen.

Dieser Versuch wurde ähnlich, wie Versuch 5, jedoch an Jung-
hähnen mit negativem Ausgangstiter durchgeführt.

Die Spray-Vakzinationen wurden ebenfalls mit dem Zerstäuber-
gerät Atomist durchgeführt. Die Gruppen bestanden aus je
25 Tieren. Die Versuchstiere wurden bis zur zehnten Woche
isoliert gehalten.

Versuchsvoraussetzungen:

Alter der Tiere	: 10 Wochen
Impfstamm	: Hitchner-B ₁ (1097B)
Konzentration	: Gr. A 1000 Dosen in 250 ml Wasser
	: Gr. B 10000 Dosen in 250 ml Wasser
	: Gr. C 1000 Dosen in 1000 ml Wasser
	: Gr. D 1000 Dosen in 10000 ml Wasser
Impfdosis	: Gr. A $10^{6,0}$ EID ₅₀ /Tier
	: Gr. B $10^{7,0}$ EID ₅₀ /Tier
	: Gr. C $10^{6,0}$ EID ₅₀ /Tier
	: Gr. D $10^{6,0}$ EID ₅₀ /Tier
Antikörper-Titer am	
Spraytag	: nicht nachweisbar
Sprayzeiten	: Gr. A 6,31 sec.
	: Gr. B 6,31 sec.
	: Gr. C 20,2 sec.
	: Gr. D 202 sec.

Ergebnis:

Tabelle 13 zeigt die Mittelwerte der Titerkennzahlen spray-vakzinieren Gruppen A bis D vom 7. bis 28. tg.p.v..

In Abb. 9 ist der Titerverlauf der einzelnen Gruppen graphisch dargestellt.

In Tab. 14 wird die Antikörper-Entwicklung solcher Gruppen miteinander verglichen und statistisch ausgewertet (Gr. A, C und D), die pro Tier dieselbe Vakzine-Dosis, jedoch in unterschiedlicher Wassermenge suspendiert, erhielten. Zusätzlich werden die beiden Gruppen miteinander verglichen (Gr. A und B), die in gleicher Wassermenge unterschiedliche Vakzinekonzentrationen erhielten.

Alle spray-vakzinieren Gruppen zeigen im Vergleich zum negativen Ausgangswert einen Antikörper-Anstieg.

Das Maximum der Titerentwicklung ist bei Gruppe B bereits 7 tg.p.v., bei den Gruppen A, C und D 14 tg.p.v. zu verzeichnen. Ab diesem Zeitpunkt sinken alle Titer wieder ab. Bei der statistischen Auswertung der Einzelwerte zeigt sich ein sehr deutlicher Unterschied zwischen den Gruppen A und D, d.h. bei den Gruppen, bei denen bei gleicher Vakzine-Dosis pro Tier diese Dosis in der Gruppe D in der 40-fachen Wassermenge, im Gegensatz zur Gruppe A, suspendiert war. Diese Gruppe erbrachte über die gesamte Versuchsperiode von vier Wochen im Vergleich zu Gruppe A signifikant erniedrigte Titer.

Mit einem Zehntel der Wassermenge bei Gr. C (1000 ml) werden im Vergleich zu Gr. D (10000 ml) bis zum 14. tg.p.v. signifikant höhere Antikörper-Titer erzielt.

Die weitere Erniedrigung der Wassermenge bei Gr. A (250 ml) auf ein Viertel führt im Vergleich zur Gr. C (1000 ml) ab 14. tg.p.v. bis Versuchsende zu signifikant höheren Antikörper-Titern. Eine gleich geringe Wassermenge wie bei Gr. A jedoch mit Erhöhung der Virusdosis auf das zehnfache bei Gr. B zeigt über einen wesentlichen Teil der Versuchsperiode signifikant höhere Titer als die Gr. A. Bei keiner Versuchsgruppe traten klinische Erscheinungen auf. Die Ergebnisse der Testinfektion sind in Tab. 15 zusammengestellt.

Alle testinfizierten Tiere der spray-vakzinierten Gruppen überlebten diese massive Infektion. Die Kontrolltiere verendeten alle innerhalb von sieben Tagen.

Gruppe	O-Wert	Tage p.v.			
		7	14	21	28
A	-	5,0	6,2	5,0	4,0
B		6,6	6,4	5,5	4,6
C		4,6	5,3	4,3	3,4
D		1,9	4,3	4,0	3,2

Tabelle 13 - Mittelwerte der Titerkennzahlen nach Spray-Vakzinationen mit verschiedener Vakzine-Konzentration und verschiedenen Wassermenge

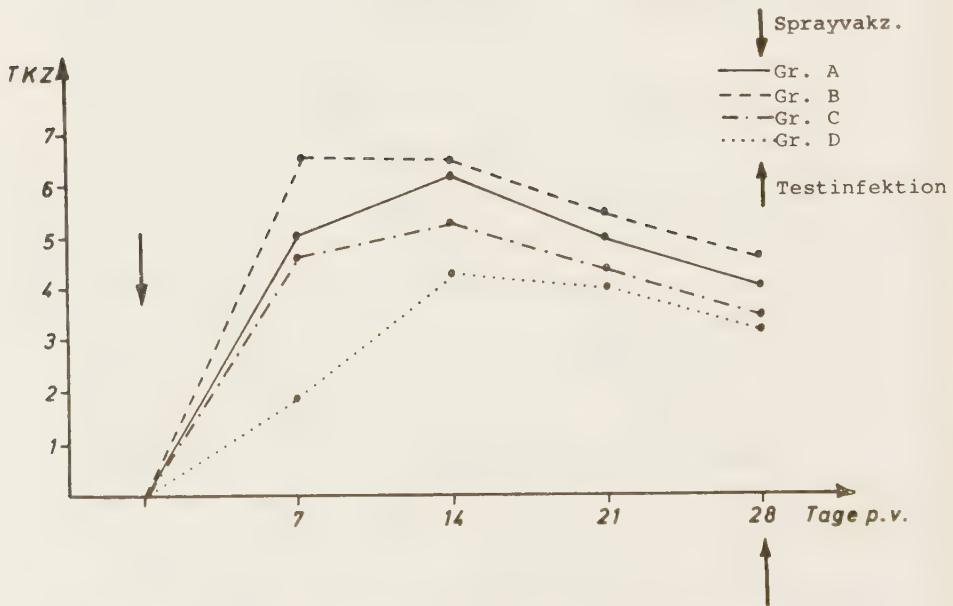


Abb. 9 - Vergleichende Darstellung der Antikörper-Entwicklung nach Spray-Vakzinationen mit verschiedener Vakzine-Konzentration und verschiedenen Wassermenge

Gruppen			Tage p.v.			
	Wassermg.	Vakz.-Konz.	7	14	21	28
A : C	1 : 4	1 : 1	-	+	+	+
C : D	1 : 10	1 : 1	+++	+	-	-
A : D	1 : 40	1 : 1	+++	+++	+++	+++
A : B	1 : 1	1 : 10	++	-	++	+

Tabelle 14 - Statistischer Vergleich der Antikörper-Entwicklung in Abhängigkeit von unterschiedlicher Wassermenge und Vakzine-Konzentration

- = $p > 0,05$ (nicht gesichert)

+ = $p < 0,05$

++ = $p < 0,01$

+++ = $p < 0,001$

Gruppe	Testinfektion am Versuchsende überlebende Tiere/testinf. Tiere
A	10/10
B	10/10
C	10/10
D	10/10
Kontrolle	0/10

Tabelle 15 : Ergebnisse der Testinfektion 10 Tg. p.i.

Versuch 7: Vergleich zwischen Spray-Vakzination und Trinkwasser-Vakzination (13 Tage alte Küken, Feldversuch).

In diesem Feldversuch wurden die beiden Spray-Geräte Gloria und Atomist bei Tieren in Bodenhaltung in ihrer immunisierenden Wirkung miteinander verglichen.

Weiterhin konnten die spray-vakzinierten Gruppen mit einer Gruppe verglichen werden, die trinkwasser-vakziniert wurde. Die Spray- bzw. Trinkwasser-Vakzination wurde vier Wochen nach der Erst-Vakzination wiederholt. Die Spray-Gruppen wurden mit dem jeweils gleichen Gerät nachvakziniert.

Die Versuchsgruppen waren in 3 x 3 m Abteilen in Bodenhaltung untergebracht. Die Gruppen umfaßten je 240 Tiere.

Versuchsvoraussetzungen:

Alter der Tiere	: 13 Tage - Legetyp
Impfstamm	: Hitchner-B ₁ (Op.Nr. 1080)
Konzentration	: Atomist (Gr. A) 1000 Dosen in 250 ml Wasser
	: Gloria (Gr. G) 1000 Dosen in 1000 ml Wasser
	: Trinkwasser (Gr. T) 1000 Dosen in 20 l Wasser
Impfdosis	: $10^{5,32}$ EID ₅₀ /Tier
maternale Antikörper-	
Titer am Spray- bzw.	
Vakzinationstag	: Titerkennzahl 2,1
Sprayzeiten	: Atomist 60 sec.
	: Gloria 46 sec.

Ergebnis:

In Tabelle 16 sind die durchschnittlichen Titerkennzahlen der einzelnen Gruppen zusammengefaßt.

In der statistischen Auswertung der Tab. 17 wurden die Titer der Trinkwasser-Vakzination mit den Titern der einzelnen Spray-Vakzinationen verglichen.

In Tab.17a werden die Titer der beiden Spray-Geräte in ihrer immunisierenden Wirkung statistisch abgesichert.

Abbildung 10 zeigt den Titerverlauf nach den Einzel-Vakzinationen in graphischer Darstellung.

Es zeigt sich, daß bei der Gruppe A ein steiler Antikörper-Anstieg ab dem 14. tg.p.v. im Gegensatz zum Ausgangswert zu verzeichnen ist. Ebenso zeigt die trinkwasser-vakzinierte Gruppe T ab 14 tg.p.v. einen Antikörper-Anstieg, der aber langsamer verläuft und nicht die Höhe der Gruppe A erreicht. Die Gruppe G (Gloria) zeigt im Anschluß an die Spray-Vakzination keinen Antikörper-Titer-Anstieg.

Nach der zweiten Vakzination steigen die Antikörper-Werte der Gr. A und T am 7. tg.p.v. an. Ein verzögerter und in der Höhe geringerer Anstieg ist bei der Gloria-Gruppe erst am 14. tg.p.v. nach der Zweit-Vakzination zu sehen. In der statistischen Auswertung der Atomist-Gruppe zur Trinkwasser-Gruppe zeigt sich, daß die spray-vakzinierte Gruppe teilweise signifikant höhere Antikörper-Titer im Vergleich zur trinkwasser-vakzinierten Gruppe aufweist. Durch die Trinkwasser-Vakzination konnten im Vergleich zur Spray-Vakzination mit der Kolbenrückenspritze über einen wesentlichen Zeitraum des Versuches signifikant höhere Antikörper-Titer erzielt werden.

Die vergleichende statistische Auswertung der Spray-Geräte-Titer ergab bei sieben von acht Verfolgsuntersuchungen gesichert höhere Titer mit dem Zerstäubergerät Atomist (Tab. 17a).

Während des Versuchsverlaufes traten keine klinischen Erscheinungen auf.

In Tab. 18 sind die Ergebnisse der Testinfektionen zusammengefaßt. Die am 13. Lebenstag bei den Küken mit einem Gehalt an maternalen Antikörpern von Titerkennzahl 2,1 durchgeführte Testinfektion ergab eine Mortalität von ca. 50 %. Vier Wochen nach der Erst-Vakzination verendete als Folge der Testinfektion ein Tier der Atomist-Gruppe und vier Tiere der Gloria-Gruppe. Die Trinkwasser-Gruppe zeigte einen vollständigen Schutz gegenüber der Belastungsinfektion.

Elf Wochen nach der Zweit-Vakzination überlebten die Tiere aller Gruppen die Testinfektion.

Alle Kontrolltiere verendeten bei jeder Testinfektion innerhalb von fünf bis acht Tagen.

Gruppe	MAK	Tage nach d. 1. Vakz.				Tage nach d. 2. Vakz.			
		7	14	21	28	7	35	56	77
A	2,1	2,17	5,00	4,22	4,34				
						5,15	4,16	2,37	2,67
G		1,62	2,03	1,63	1,44				
						1,28	2,78	2,12	1,55
T		2,09	4,19	3,67	3,16				
						3,94	4,10	2,38	1,16

Tabelle 16 - Mittelwerte der Titerkennzahlen beim Vergleich von Spray- und Trinkwasservakzination

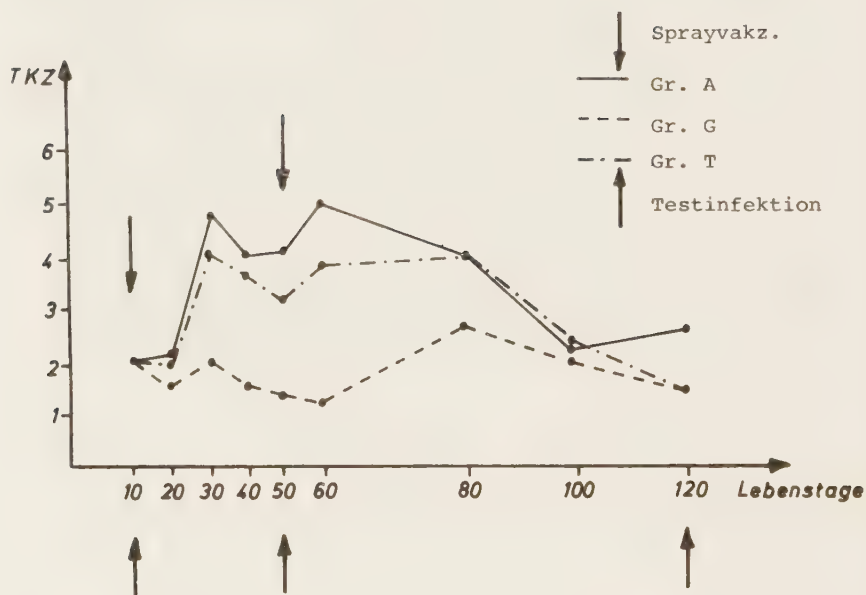


Abb. 10 - Vergleichende Darstellung der Antikörper-Entwicklung, Vergleich zwischen Spray- und Trinkwasser-vakzination

Gruppe	Tage nach der 1. Vakz.				Tage nach der 2. Vakz.			
	7	14	21	28	7	35	56	77
A : T	-	+	-	+++	++	-	-	+
T : G	-	+++	+++	+++	+++	++	-	-

Tabelle 17 - Statistische Auswertung, Vergleich der Spray-Vakzination zur Trinkwasser-Vakzination

Gruppe	Tage nach der 1. Vakz.				Tage nach der 2. Vakz.			
	7	14	21	28	7	35	56	77
A : G	++	+++	+++	+++	+++	++	-	+

Tabelle 17a - Statistische Auswertung, Vergleich beider Spray-Gruppen

- = $p > 0,05$ (nicht gesichert)
 + = $p < 0,05$
 ++ = $p < 0,01$
 +++ = $p < 0,001$

Gruppe	Testinfektionen - Überlebende Tiere / testinf. Tiere		
	vor 1.Spray-Vakz.	vor 2.Spray-Vakz.	11 Wo. nach 2.Spray-Vakz.
MAK	10/19		
A		9/10	
G		4/10	
T		10/10	
AA			6/6
GG			6/6
TT			6/6
Kontrolle	0/10	0/10	0/10

Tabelle 18 - Ergebnisse der Testinfektionen, 10 Tg. p.i.

Versuch 8: Vergleich zwischen Spray-Vakzination und Trinkwasser-Vakzination (Legehennen, Feldversuch).

Für diesen Versuch standen zwei gleichalte Herden gleicher Herkunft in getrennten Hallen eines Betriebes in Batteriehaltung zur Verfügung. Die drei-etagigen Käfige waren mit drei bis vier Legehennen besetzt. Die Legetiere waren bis Versuchsbeginn im Rahmen des üblichen Impfprogrammes trinkwasser-vakziniert worden.

Für die Antikörper-Bestimmung wurden an jedem Probeentnahmetag 30 Eier verteilt aus dem gesamten Stall entnommen und im Eidottertest untersucht. Die Legeleistung der Hennen wurde in Legelisten geführt. Bei diesem Spray-Vakzinationsversuch kam die Kolbenrückenspritze im Vergleich zur Trinkwasser-Vakzination zum Einsatz.

Versuchsvoraussetzungen:

Alter der Tiere	: 1 Jahr
Impfstamm	: La-Sota (Op.Nr. 13)
Konzentration - Spray-	
Vakzine	: 2000 Dosen in 200 ml Wasser
Konzentration - Trink-	
wasser-Vakzine	: 2000 Dosen in 80 l Wasser
Impfdosis	: $10^{6,0}$ EID ₅₀ /Tier
Antikörper-Titer am	
Spraytag	: Titerkennzahl 3,55
Sprayzeiten	: Gloria 7 Minuten

Ergebnis:

In Tabelle 19 sind die durchschnittlichen Titerkennzahlen der vakzinierten Gruppen zusammengefaßt.

Die statistische Auswertung in Tab. 20 zeigt den Vergleich der Antikörper-Entwicklung zwischen Spray- und Trinkwasser-Vakzination.

Abbildung 11 zeigt den vergleichenden Antikörper-Verlauf in graphischer Darstellung.

Es zeigt sich bei beiden Gruppen ein Antikörper-Anstieg erst ab dem 14. tg.p.v..

Mit der Spray-Vakzination wird ein höherer Antikörper-Titer erzielt.

Am Versuchsende sind beide Werte weitgehend einander angeglichen.

Die statistische Auswertung ergibt am 14. und 21. tg.p.v. signifikant unterschiedliche Antikörper-Titer.

Durch die Spray-Vakzination konnten zu den genannten Zeiten deutlich höhere Antikörper-Spiegel erzielt werden.

Die Titerunterschiede waren jedoch am 35. tg.p.v. nicht mehr gesichert.

Die Legeleistung zeigte während des Versuchszeitraumes keine Schwankungen.

Bei den vakzinierten Herden traten während des gesamten Versuchsverlaufes keine klinischen Erscheinungen auf.

Gruppe	0-Wert	Tage p.v.			
		7	14	21	35
Trinkw.	3,60	3,26	4,76	3,80	4,66
Spray	3,40	3,34	5,73	5,53	5,20

Tabelle 19 - Mittelwerte der Titerkennzahlen nach Spray- und Trinkwasser-Vakzination

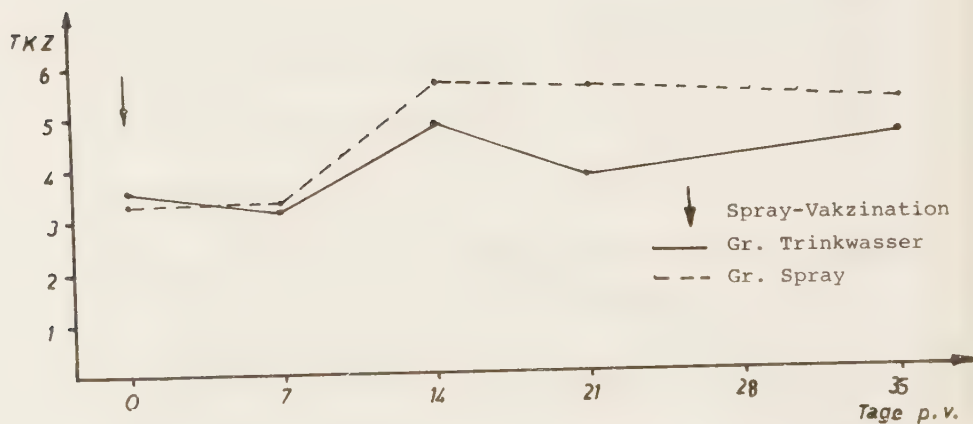


Abb. 11 - Vergleichende Darstellung der Antikörper-Entwicklung beim Einsatz von Spray- und Trinkwasser-Vakzination

Gruppe	Tage p.v.			
	7	14	21	35
Trw : Spray	-	+++	+++	-

Tabelle 20 - Statistische Auswertung,
Vergleich von Spray- zur Trink-
wasservakzination

- = $p > 0,05$ (nicht gesichert)

+ = $p < 0,05$

++ = $p < 0,01$

+++ = $p < 0,001$

Bei diesem Versuch interessierte noch zusätzlich das Antikörper-Verteilungsmuster der beiden Versuchs-Gruppen.

Die im Eidottertest gewonnenen Titerkennzahlen wurden in Koordinatensysteme eingetragen und zu einem Kurvenbild verbunden.

Abbildungen 12 bis 15 geben die Verteilungsmuster an vier Entnahme-Tagen als Vergleich zwischen Spray- und Trinkwasser-Vakzination wieder.

S P R A Y

T R I N K W A S S E R

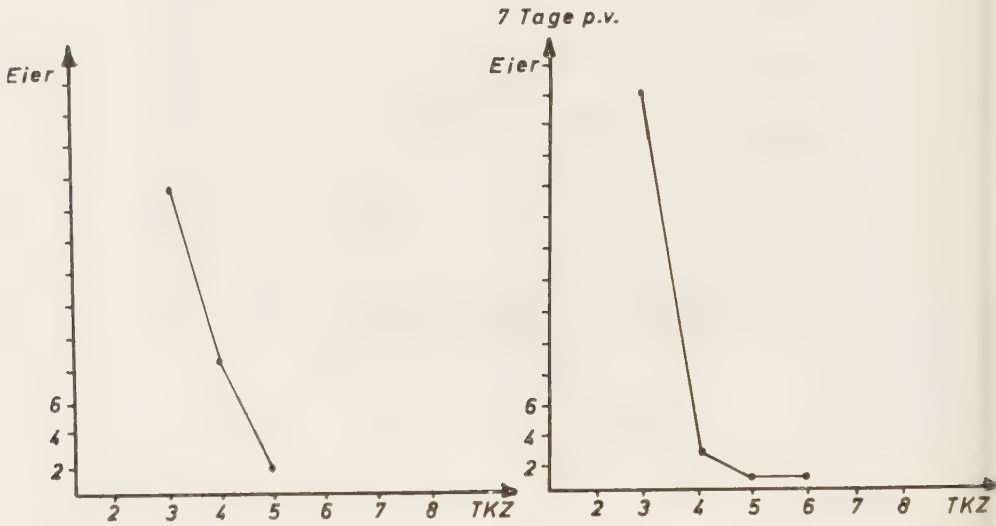


Abb. 12 - Vergleich der Verteilungsmuster zwischen Spray- und Trinkwasservakz. Gruppen 7 Tage p.v.

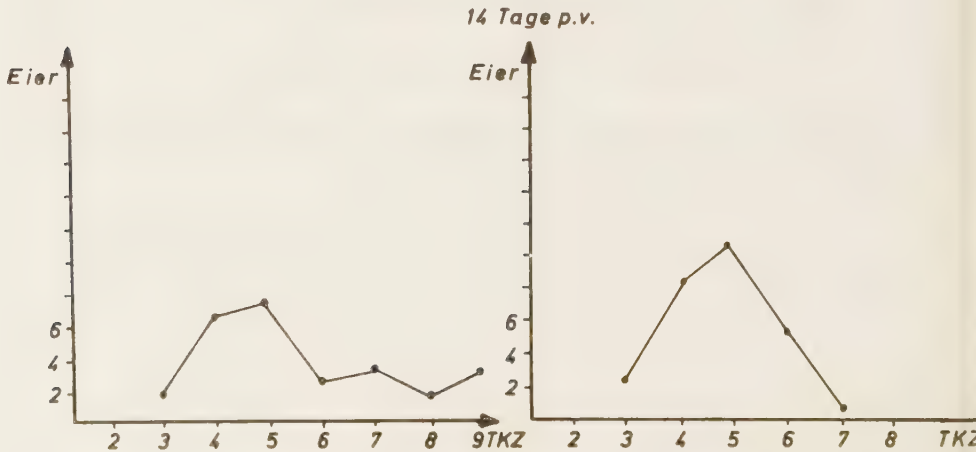


Abb. 13 - Vergleich der Verteilungsmuster zwischen Spray- und Trinkwasservakz. Gruppen 14 Tage p.v.

SPRAY

TRINKWASSER

21 Tage p.v.

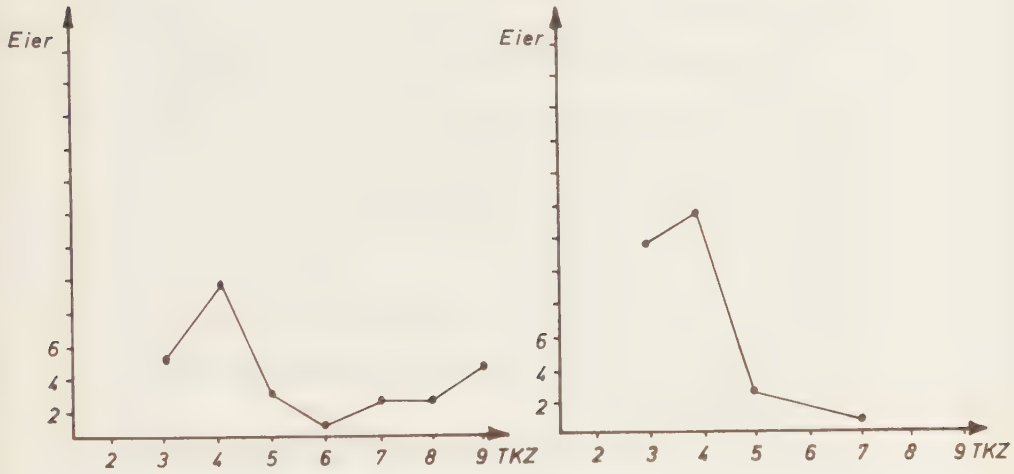


Abb. 14 - Vergleich der Verteilungsmuster zwischen Spray- und Trinkwasservakz. Gruppen 21 Tage p.v.

35 Tage p.v.

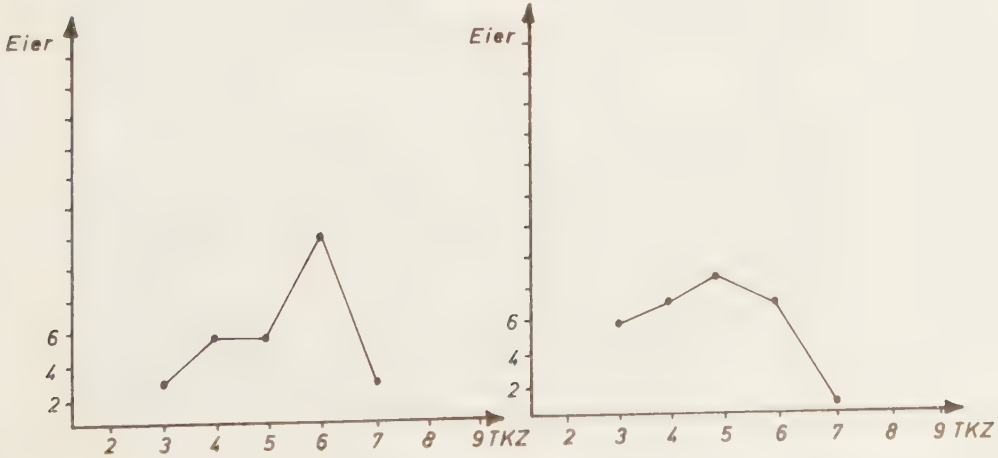


Abb. 15 - Vergleich der Verteilungsmuster zwischen Spray- und Trinkwasservakz. Gruppen 35 Tage p.v.

D. Diskussion:

Die in den eigenen Versuchen angewandte einfache Technik gab ausreichend genaue Meßergebnisse, um das unterschiedliche Größen-Spektrum der mit den einzelnen Geräten ausgeworfenen Spray-Tröpfchen zu bestimmen.

Das engste Tröpfchengrößen-Spektrum zeigte das Gerät Mikrojet (1 bis 90 Mikron).

In einem relativ engen Größen-Bereich lagen auch die Tröpfchen der Geräte Turbair (1 bis 100 Mikron) und Atomist (1 bis 140 Mikron).

Im Gegensatz dazu stand der sehr weite Streu-Bereich der Tröpfchengrößen der Kolbenrückenspritze von 10 bis 340 Mikron.

Die prozentuale Verteilung der ausgewerteten Meßergebnisse unter 50 Mikron lag beim Schleudertellerprinzip Mikrojet mit 89 % im günstigsten Bereich.

Beim Propeller-Gerät Turbair wurden 61 %, beim Zerstäuber-Gerät Atomist 50 % und bei der Kolbenrückenspritze Gloria 16 % der ausgewerteten Tröpfchen in Größen unter 50 Mikron gezählt.

GOUGH und ALLAN (1973) werten in ihren Untersuchungen Tröpfchengrößen-Bereiche von 0,2 bis 8 Mikron aus, wobei die prozentuale Verteilung der Tröpfchen innerhalb dieses Bereiches vom verwendeten Suspensionsmittel abhängig ist. Diese von GOUGH und ALLAN benutzte Technik kann nicht mit der eigenen Technik verglichen werden, wo in einem einfachen System die ausgeworfenen Tröpfchen in ihrer Größe bestimmt werden.

Das von SCHULZE-REHM (1973) pauschal angegebene Tröpfchen-
größen-Spektrum von 5 bis 60 Mikron für das Gerät Mikrojet
konnte in eigenen Versuchen als prozentuale Verteilung im
Bereich von 1 bis 90 Mikron differenziert dargestellt werden.
Ein Vergleich der Spray-Zeiten für 1000 Tiere unter Ver-
wendung von 1000 Vakzine-Dosen, suspendiert in 1000 ml Wasser,
zeigte, daß man mit dem Spray-Gerät Mikrojet bei Einstel-
lung 3 ca. sechs Minuten, bei Einstellung 10 ca. zwei
Minuten für die Vakzination benötigt.
Unter gleichen Voraussetzungen benötigt man mit dem Gerät
Turbair ca. 12 Minuten, mit dem Gerät Atomist ca. 17 Minuten
und mit der Kolbenrückenspritze dreieinhalb Minuten, um für
1000 Tiere die genannte Vakzine-Flüssigkeitsmenge zu ver-
sprayen.

Die statistische Auswertung (Versuch 1) der erzielten Anti-
körper gestattete eine Einteilung in zwei Geräte-Gruppen
Atomist und Mikrojet gegenüber Turbair und Gloria - innerhalb
derer sich nur geringe Unterschiede in der Antikörper-Ent-
wicklung zeigten.

Die vergleichende Anwendung der verschiedenen Gerätetypen
zeigte technische Anwendungsprobleme bei den einzelnen
Geräten, so daß für die meisten Versuche nur das Zerstäuber-
Gerät Atomist und die Kolbenrückenspritze Gloria eingesetzt
wurden.

Das Spray-Gerät Turbair zeigte während des Sprüh-Vorganges
einen starken seitlichen Verlust an Flüssigkeit, so daß
eine genaue Vakzine-Dosierung mit diesem Gerät bei Vakzinations-

Versuchen schwierig war. Außerdem war die Arbeitsweise des in der Hand zu haltenden Gerätes wegen der starken Sogentwicklung für die Bedienungsperson nicht ungefährlich.

Das Spray-Gerät Mikrojet zeigte im Gegensatz zum Atomist in Versuch 1 keinen Vorteil in der immunisierenden Wirkung und war wegen der umständlichen Füllung des nur 2 Liter fassenden Vorratsbehälters schwieriger zu handhaben.

Der Zerstäuber-Gerät Atomist kann leicht bedient werden.

Der 4 Liter fassende Vorratsbehälter aus Plastik ist schnell zu füllen und gut zu reinigen.

Die Unabhängigkeit vom Stromnetz stellte den größten Vorteil der Kolbenrückenspritze Gloria dar. Der 10 Liter fassende Vorratsbehälter würde bei oben genannter Dosierung für die Vakzination eines Bestandes von 10000 Tieren ausreichen.

Nachteilig wirkt sich jedoch die umständliche Reinigung des schlecht zugänglichen Vorratsbehälters aus.

Bei der Geräte-Auswahl nach Versuch 1 ergab sich für die folgenden Vakzinations-Versuche die Möglichkeit, ein handbetriebenes gegen ein elektrisch betriebenes Gerät bei verschiedenen Aufstellungsformen und unterschiedlichem Lebensalter der Impflinge zu prüfen.

Es zeigte sich in den Vakzinations-Versuchen 2 und 3, daß das Zerstäuber-Gerät Atomist und die Kolbenrückenspritze bei Tieren in Käfighaltung gleich gut einzusetzen waren.

Es wurden relativ einheitliche Titer nach der Vakzination erzielt, die zwar numerische Abweichungen aufwiesen, aber in der statistischen Auswertung als gleichwertig zu bezeichnen sind.

Die mit beiden Geräten spray-vakzinierten Tiere waren bei der Testinfektion hoch belastbar.

Unterschiedliche Ergebnisse ergaben sich beim Einsatz beider Spray-Geräte zur Vakzination von Tieren in Bodenhaltung.

So konnte mit der Kolbenrückenspritze Gloria im Versuch 7 im Gegensatz zum Zerstäuber-Gerät Atomist keine meßbare Immunitätsentwicklung hervorgerufen werden. Da die Tiere in Bodenhaltung dem begrenzten Spraystrahl dieses Gerätes ausweichen konnten, war es nicht möglich, alle Tiere gleichmäßig zu besprühen. Wenn es aber, wie in Käfighaltung, für die Tiere keine Ausweichmöglichkeiten vor dem Spraystrahl gibt, kann auch mit der Kolbenrückenspritze und dem in Auswurfweite relativ begrenzten Spraystrahl ein gutes Vakzinations-Ergebnis erzielt werden, wie Versuch 8 zeigt.

In allen eigenen Versuchen wurde Leitungswasser als Verdünnungsmedium benutzt, da möglichst praxisgerecht verfahren werden sollte. Es ist bekannt, daß der Erfolg der Spray-, ebenso wie der Trinkwasser-Vakzination unter anderem vom starken Gehalt des Leitungswassers sowohl an Chlor und Fluor (DORN, 1971), als auch an Sulfat-, Sulfit- und Ammoniumionen (ROEPKE, 1973) abhängig ist. Diese variablen und kaum kontrollierbaren Inhaltsstoffe des Wassers können das Impfvirus in seiner Wirkung abschwächen.

Inwieweit die Glycerinanreicherung und der damit verbundene längere Schwebezustand (N.N., 1973) bei gleichzeitiger Stabilisierung des Impfvirus zu besseren Vakzinations-Ergebnissen führt, wurde in den eigenen Versuchen nicht nachgeprüft.

GOUGH und ALLAN (1973) wiesen nach, daß bei Verwendung anderer Verdünnungsmedien als Leitungswasser, wie destilliertes Wasser und deionisiertes Wasser mit Glycerinzusatz, prozentual kleinere Tröpfchen zu erzielen sind.

Die Frage nach der Wahl des Impfstammes stand nicht im Vordergrund der vorliegenden Arbeit. Es wurden die beiden Impfstämme Hitchner-B₁ und La-Sota eingesetzt. Ein deutlicher Unterschied zwischen den beiden Vakzine-Stämmen hinsichtlich der meßbaren Antikörper bestand nicht. Dieses stellte auch SCHULZE-REHM (1973) bei seinen Spray-Versuchen fest.

Die Eigenschaft der horizontalen Ausbreitung des Impfstammes La-Sota, wie von LANDGRAF und VIELITZ (1972) beschrieben, läßt diesen Stamm für die Spray-Vakzination vorteilhafter erscheinen. Wenn Tiere in Bodenhaltung oder Stallungen mit vielen Hindernissen spray-vakziniert werden, so können auch diejenigen Tiere, die primär zur wenig Vakzine-Virus aufnehmen konnten, durch die horizontale Ausbreitung des Impfvirus noch Vakzine-Virus aufnehmen und zu einer relativ guten Immunität gelangen.

In den meisten Versuchen wurden Viruskonzentrationen verwendet, die zwischen $10^{5,35}$ EID₅₀ und $10^{6,0}$ EID₅₀ pro Tier lagen. Bis auf die Versuche 5 und 6 wurden jeweils 1000 Vakzine-Dosen, also $10^{8,35}$ EID₅₀ bis $10^{9,0}$ EID₅₀, in 1000 ml Wasser suspendiert. Mit dieser Konzentration wurde immer eine zufriedenstellende Immunität ausgelöst.

SCHULZE-REHM (1973) benutzte bei seinen Spray-Vakzinationen Viruskonzentrationen, die zwischen $10^{7,38}$ EID₅₀ und $10^{8,44}$ EID₅₀ pro Tier lagen.

Die in den Versuchen 5 und 6 benutzte zehnfach höhere Dosierung im Vergleich zur üblichen Dosierung bei dieser Impfstoffcharge, ergab einen höheren und schnelleren Antikörper-Anstieg, der jedoch im weiteren Versuchsverlauf auf das Niveau der übrigen Vakzine-Anwendungen absank.

Eine wesentliche Feststellung ist auch der schnellere Eintritt der Immunität, wenn gleiche Virusmengen in stufenweise geringere Wasservolumina suspendiert werden. Im Versuch 5 und 6 konnten mit 1000 Vakzine-Dosen auf 250 ml Leitungswasser höhere Titer, als mit 1000 Vakzine-Dosen auf 1000 ml Wasser oder 1000 Vakzine-Dosen auf 10000 ml Leitungswasser erzielt werden. In den Versuchen von SCHULZE-REHM (1973) wurden 500 Vakzine-Dosen in 300 bis 1666 ml Wasser suspendiert. Sowohl die Einmischung von Vakzine-Virus in geringere Wassermengen, als auch die Erhöhung der Vakzine-Dosis um den Faktor 10 ergaben in eigenen Versuchen einen schnelleren und höheren Antikörper-Anstieg.

Mit dem Zerstäuber-Gerät Atomist gelang es bei einer Vakzine-Konzentration von 1000 Dosen auf 250 ml Wasser und einer Vakzinemenge von $10^{7,0}$ EID₅₀ pro Tier einen schnelleren und höheren Antikörper-Anstieg hervorzurufen, als bei geringeren Konzentrationen der gelösten Vakzine und üblicher Dosierung.

Die Wiederholungsvakzination in den Versuchen 3, 4 und 7 ergab meist keinen deutlichen Anstieg des Antikörper-Titers,

wie er als Booster-Effekt denkbar wäre. Im Gegensatz zu den eigenen Versuchsanstellungen zeigte sich bei SCHULZE-REHM (1973) ein deutlicher Booster-Effekt bei den mit Hitchner-B₁ vakzinierten Gruppen, die mit dem Stamm La-Sota nachvakziniert wurden.

Bei den einzelnen Versuchen traten nur bei Versuch 3 bei einigen Tieren klinische Erscheinungen in Form leichter respiratorischer Symptome als Folge der Spray-Vakzination auf. Darüber berichten auch andere Autoren, wie PRICE (1955), ANDRÉ (1966) und SCHULZE-REHM (1973). Diese klinischen Erscheinungen wurden in den eigenen Versuchen nur für die Dauer von einigen Tagen und in leichter Form beobachtet. Todesfälle, wie sie von LANDGRAF und VIELITZ (1972) nach der Spray-Vakzination registriert wurden, traten in den eigenen Versuchen nicht auf.

Nach der Spray-Vakzination bei Legetieren in Versuch 8, war kein Abfall der Legeleistung zu verzeichnen. Die in den eigenen Versuchen beobachtete gute Verträglichkeit der Spray-Vakzination, vor allem bei Jungtieren, findet mit einer Erklärung in der Tatsache, daß die Küken und Junghähne insgesamt von kontrolliert Mycoplasma gallisepticum-negativen Elterntierherden abstammen. Die in der Literatur bekannten ausgeprägten klinischen Erscheinungen nach Spray-Vakzinationen sind zumindest zum Teil Folge einer gleichzeitigen Mykoplasmosen-Infektion. DORN (1974) weist deshalb auf die Gefahr einer Mykoplasmosen-Aktivierung im Gefolge von Spray-Vakzinationen hin.

Versuch 2 zeigt, daß bei Küken mit nicht mehr nachweisbaren maternalen Antikörpern mit der Spray-Methode ein guter Impftiter aufgebaut werden kann.

Auch bei Küken, die am 8., 12. und 13. Lebenstag mit einem geringen Gehalt an maternalen Antikörpern von Titerkennzahl 1,2 bis 2,1 spray-vakziniert wurden gelang es, einen deutlichen Antikörper-Anstieg zu erzielen. Dies zeigen die Versuche 3, 5 und 7.

DORN und MITARBEITER (1973) wiesen auf die Hemmwirkung der maternalen Antikörper bei Spray-Vakzinationen vor dem 12. Lebenstag hin. Die Spray-Vakzination am 8. Lebenstag in Versuch 3 bei maternalem Ausgangs-Titer von 1,2 ergab deutliche Antikörper-Anstiege.

Bei einem Vergleich des Antikörper-Anstieges nach der Spray-Vakzination bei gleichaltrigen Tieren mit und ohne maternale Antikörper (Versuch 2, Versuch 5 - Spray-Gerät Atomist) fällt jedoch der steilere Anstieg der Antikörper-Entwicklung bei Tieren ohne maternale Antikörper auf.

Versuch 5 zeigt darüber hinaus, daß ein noch steilerer Anstieg des Antikörper-Spiegels durch eine Erniedrigung der Wassermenge und gleichzeitiger Erhöhung der Vakzine-Dosis um den Faktor 10 erreicht werden kann.

Entgegen den Mitteilungen von SIGIMURA und MITARBEITERN (1970) und LANDGRAF und VIELITZ (1972), die Tiere mit geringem Gehalt an maternalen Antikörpern spray-vakzinierten, gelang es in eigenen Versuchen sowohl mit dem Impfstamm Hitchner-B₁, als auch mit dem Impfstamm La-Sota einen belastbaren Impfschutz zu erreichen.

In keinem Versuch konnte eine komplette Neutralisation des Impfvirus durch maternale Antikörper festgestellt werden, wie es HIGGINS (1971) bei seinen Vakzinations-Versuchen beobachtete.

Die von LANDGRAF und VIELITZ (1970) festgestellte uneinheitliche Schutzwirkung maternaler Antikörper konnte in Versuch 7 bestätigt werden. Der maternale Antikörper-Gehalt in Höhe der Titerkennzahl 2,1 am 13. Lebenstag schützte nur 50 % der Versuchstiere vor einer tödlich verlaufenden Testinfektion.

Bei allen Untersuchungen wurden mindestens 25 Proben (Blutproben, Eiprobe) einer Versuchs-Gruppe im Haemagglutinations-Hemmungstest untersucht. Nach SIEGMANN und MITARBEITERN (1973) genügt die Untersuchung von 25 bis 30 Proben, um wissenschaftlich korrekte, biometrisch gesicherte sowie medizinisch befriedigende Rückschlüsse auf den Vakzinations-Erfolg der Herde ziehen zu können.

Die Titerhöhe der vorliegenden Versuche steht in gewissem Gegensatz zu anderen Untersuchungs-Ergebnissen. So erhält SCHULZE_REHM (1973) bei seinen experimentellen Untersuchungen zur Spray-Vakzination wesentlich höhere Titer, bis Titerkennzahl 10, während in eigenen Versuchen maximal Titerkennzahl 6 erreicht wurde. Er verwendet allerdings La-Sota-Vakzine mit einem Virus-Gehalt von $10^{7,38} \text{ EID}_{50}$ bis $10^{8,44} \text{ EID}_{50}$ pro Tier im Gegensatz zu den in eigenen Versuchen verwendeten Vakzinen mit einem Virus-Gehalt von $10^{5,32} \text{ EID}_{50}$ bis $10^{6,0} \text{ EID}_{50}$ pro Tier.

Auch ROEPKE (1973) erzielt bei seinen Spray-Versuchen höhere Titerwerte, die zum Teil bis Titerkennzahl 10 reichen. Er stellt bei seinen Untersuchungen fest, daß Impfstoffe verschiedener Hersteller mit nahezu gleichem Virus-Gehalt sehr unterschiedliche Titer verursachen können.

Hier stellt sich nach DORN (1973) die Frage, wie weit Virus-Stämme bezüglich ihrer immunisierenden Wirkung durch Bezeichnungen wie La-Sota und Hitchner-B₁ durch verschiedene Vakzine-Hersteller derzeit noch ausreichend definiert sind. Die mit ähnlichen Geräten erzielten stark unterschiedlichen Titer in den eigenen Versuchen und in den Versuchen von ROEPKE (1973) sowie SCHULZE-REHM (1973) lassen diese Frage berechtigt erscheinen.

Wie Tröpfchengrößen und Verteilungsmuster zeigen, beruhen diese Unterschiede in der Antikörper-Entwicklung noch zusätzlich auf der verschiedenen Arbeitsweise der einzelnen Geräte.

Zur Beurteilung der Titer-Entwicklung selbst weist BUSCHMANN (1973) darauf hin, daß die nach "Vakzinationen entnommenen Serumproben keinen repräsentativen Aufschluß über die Stärke der Immunantwort gegenüber einem Antigen geben". Wichtiger als der Titer der gebildeten Antikörper ist nach diesem Autor die Antikörper-Affinität zum Antigen.

Diese Prüfung der Affinität stellt die Testinfektion bei allen eigenen Versuchen dar, die zusätzlich zum serologischen Nachweis gebildeter Antikörper die Schutzwirkung nach Spray-Vakzinationen zeigt.

Nach der Spray-Vakzination entwickeln sich zusätzlich zu den humoralen Antikörpern in besonderem Maße die nicht

meßbaren lokalen Antikörper des oberen Respirationstraktes.

Ebenso wie die maternalen Antikörper können die gebildeten humoralen und lokalen Antikörper, sofern sie in großem Ausmaß vorhanden sind, einen nachteiligen Einfluß bei Revakzinationen aufweisen.

So gelang es in den Versuchen 3, 4 und 7 durch Wiederholung der Spray-Vakzination, nur einen kurzzeitigen oder nur unwesentlichen Titer-Anstieg zu erzielen.

Da nach der Erstimmunisierung gebildete zirkulierende Antikörper auch in die Gewebe übertreten und zellständig werden, geben sie den Schleimhäuten des oberen Respirationstraktes die Fähigkeit eines passiven Schutz-Mechanismus (STEFFEN, 1968).

Wenn nun mit dem gleichen Antigen Wiederholungs-Vakzinationen durchgeführt werden, so trifft der Vakzinations-Spray zuerst auf die dort zellständigen Antikörper und diese fangen die erneute Antigen-Antikörper-Reaktion ohne neue Bildung humoraler Antikörper ab.

Beim Vergleich der Trinkwasser-Vakzination gegenüber der Spray-Vakzination zeigen die eigenen Versuche dann gute Erfolge bei der Trinkwasser-Vakzination, wenn diese sorgfältig durchgeführt wird. Dazu zählt die genaue Dosierung einer Vakzine mit hohem Virus-Titer in Trinkwasser einwandfreier Qualität und bei schneller Aufnahme dieses Trinkwassers durch alle Tiere.

Die Anwendung der Spray-Vakzination bringt nicht in jedem Falle bessere Ergebnisse wie die Trinkwasser-Vakzination, wie Versuch 7 zeigt. Höhere Antikörper-Titer als bei der Trinkwasser-Vakzination werden nur erzielt, wenn in der Bodenhaltung Spray-Geräte mit großer Auswurfweite eingesetzt werden, die relativ viel Tröpfchen im Bereich von 10 bis 50 Mikron auswerfen und mit ihnen auch die dem Spraystrahl ausweichenden Tiere erfaßt werden können.

Geräte mit geringer Auswurfweite, engem Spray-Kegel und relativ großem Tröpfchengrößen-Bereich von 10 bis 340 Mikron, wie sie mit der Kolbenrückenspritze ausgeworfen werden, eignen sich für die Vakzination von Tieren in Bodenhaltung weniger.

Mit einem solchen Gerät sind trotz technischer Unzulänglichkeiten in Versuch 8 dennoch gute Ergebnisse bei Tieren in Käfighaltung zu erzielen, da die Tiere dem direkten Spraystrahl ausgesetzt waren. Beim Vergleich der Antikörper-Verteilungsmuster, gemessen in Eidottertest (DORN, WESSLING, 1973) in Versuch 8 an Legeherden fällt jedoch die uneinheitlichere Antikörper-Verteilung bei spray-vakzinierten Tieren im Gegensatz zur trinkwasser-vakzinierten Gruppe auf. Es gelang durch die Spray-Vakzination mit der Kolbenrückenspritze im Vergleich zur Trinkwasser-Vakzination jedoch relativ hohe Antikörper und in der Testinfektion eine gute Schutzwirkung zu erzielen. Voraussetzung ist jedoch, daß alle Käfigabteile sorgfältig und gleichmäßig besprüht werden. Wenngleich in den eigenen Versuchen mit den angewendeten Vakzine-Stämmen keine wesentlich besseren Antikörper-Spiegel

über die gesamten Versuchszeiträume in Vergleich zur Trinkwasser-Vakzination erreicht wurden, so erfolgen die Antikörper-Anstiege nach der Vakzination mit der Spray-Technik meist schneller als mit der Trinkwasser-Vakzination. Diese Untersuchungs-Ergebnisse rechtfertigen die Anwendung der Spray-Technik bei hohem Infektionsdruck als Notimpfung.

E. Zusammenfassung:

1. An Küken, Jungtieren und Legehennen wurden Spray-Vakzinationen gegen Newcastle-Disease in experimentellen Untersuchungen und im Feldeinsatz vergleichend mit verschiedenen Spray-Geräten und im Vergleich zur Trinkwasser-Vakzination durchgeführt.
2. Der Ablauf von insgesamt acht Versuchen nach Spray-Vakzination einschließlich von Wiederholungsvakzinationen wurde in 3600 Haemagglutinations-Hemmungstesten verfolgt und der Vakzinationserfolg in entsprechenden Testinfektionen kontrolliert.
3. Der von den vier benutzten Gerätetypen ausgeworfene Spraystrahl wurde in seinem Tröpfchengrößen-Spektrum gemessen und graphisch dargestellt.
4. Der nach dem Zerstäuberprinzip arbeitende Gerätetyp Atomist ergab ein relativ enges Tröpfchenspektrum von 1 bis 140 Mikron und besonders einheitliche und ausgeprägte Antikörperanstiege. Die große Auswurfweite dieses Gerätes gestattet auch in der Bodenhaltung eine wirksame Spray-Vakzination.
5. Die handbetriebene, nach dem Zerstäuberprinzip arbeitende Kolbenrückenspritze Gloria ist aufgrund ihres geringen Sprayvolumens nur für die Spray-Vakzination käfiggehaltener Tiere verwendbar.

6. Der im Vergleich zur Trinkwasser-Vakzination mit der Spray-Vakzination zu erzielende raschere Antikörper-Anstieg rechtfertigt den Einsatz der Spray-Vakzination insbesondere als Notimpfung bei hohem Infektionsdruck.

E. Summary

1. Spray-Vaccination was carried out against Newcastle Disease in experimental investigations and under field conditions.

Different spray-equipments were used and compared in comparison to vaccination by drinking-water in chicks, elder cocks and hens.
2. The course of a total of eight experiments was closely followed up after Spray-vaccination inclusively revaccinations 3600 Haemagglutination-Inhibition-Tests were carried out and the success of the vaccination controlled by challenge with a velogene virusstrain.
3. The spray-jet imitted by the four types of equipments used was measured as particle-size-spectrum and diagramed.
4. The Atomist, working after the principle of dispersion yielded in a relatively small particle-size-spectrum from 1 to 140 micron and in an expecially uniforme and pronounced rise in antibodies.

The wide range of coverage of this apparatus allows an efficient Spray-Vaccination even if the hens are kept on litter.
5. The manual piston-sprayer (Gloria), carried on the back, working according to the principle of dispersion is only

to be used for Spray-Vaccinations of animals kept in cages, because of its limited spray-volume.

6. As one achieves a quicker rise of antibodies with Spray-Vaccination in comparison with Vaccination by drinking-water the use of the Spray-Vaccination is especially justified in an emergency when there is an imminent danger of contamination.

F. Literaturverzeichnis:

- ACKERMANN, O.: Bessere Immunisierungs-Möglichkeiten
bei Nerzen gegen Staupe.
DTW 73, 11 (1966)
- ALLAN, W.H.: The effect of Neonatal Vaccination
against Newcastle Disease in the
Presence of Maternal Antibody.
Vet.Rec. 22, 64 (1973)
- ALLAN, W.H.,
S.T. FARAGHER,
G.A. CULLEN: Immunic suppression by the infections
Bursal Agent in Chickens Immunised
against Newcastle Disease.
Vet.Rec. 18, 53 (1972)
- ANDRÉ, V.: Zur Spray-Immunisierung der Hühner
gegen Newcastle Disease.
DTW 73, 279 (1966)
- BEARD, C.W.,
B.C. EASTERDAY: The Influence of the route of admini-
stration of Newcastle Disease virus on
host response.
1. Serological and virus isolation studies
J. Infect. Dis. 117, 55 (1967)
- BEARD, C.W.,
B.C. EASTERDAY: The Influence of the route of admini-
stration of Newcastle Disease virus on
host response.
2. Studies on artificial passive
immunity.
J.Infect.Dis. 117, 62 (1967)

- BEARD, C.W.,
B.C. EASTERDAY: The Influence of the route of administration of Newcastle Disease virus on host response.
3. Immunofluorescent and histopathological studies.
J.Infect.Dis. 117, 66 (1967)
- BEER, J.: Infektionskrankheiten der Haustiere Teil I
G. Fischer Verlag, Jena, 76 (1974)
- BENGELSDORFF, H.J.: Beziehungen zwischen Impfmodus und Impfschutz nach Anwendung der Newcastle Disease-Virusstämme Hitchner-B₁ und La-Sota bei Puten. Kongreßbericht
World Vet. Poultry Ass. München, 266 (1973)
- BENGELSDORFF, H.J.,
J.B. KAYSER: Vergleichende Untersuchungen über Unschädlichkeit und Immunisierungsvermögen verschiedener Newcastle Disease-Virusstämme bei Küken.
Die blauen Hefte f.d. Tierarzt, 44, 140 (1970)
- BÖHM, G.: Zur Frage der Tröpfchengröße und Eindringtiefe von Aerosolen.
Med. Klin. 47, 330 (1952)
- BUSCHMANN, H.: Der Einfluß des Antigens auf die Stärke und Qualität der Immunantwort.
BMTW 86, 5, 81 (1973)

- DORN, P.: Die Newcastle-Krankheit und ihre Immun-
prophylaxe.
Tierärztliche Praxis 1, 43 (1973)
- DORN, P.: Anwendung und Probleme der Praxis der
Newcastle-Impfung.
BMTW 87, 254 (1974)
- DORN, P.: Handbuch der Geflügelkrankheiten.
E. Ulmer Verlag, Stuttgart (1971)
- DORN, P.,
H. WIEDEMANN,
E. WESSLING: Untersuchungen zur Spray-Vakzination
gegen die Newcastle-Krankheit, Einfluß
maternalen Antikörper.
Tierärztliche Praxis 1, 23 (1973)
- DORN, P.,
E. WESSLING: Newcastle Antikörper-Kontrolle im Ei-
dotter.
DTW 80, 565 (1973)
- ENIGK, K.: Die Aerosol-Therapie des Lungenwurm-
befalls des Widerkäuers.
Zschr. Aerosol-Forsch. 5, 110 (1956)
- GOUGH, R.E., W. ALLAN: Aerosol Vacc. against N.D.:
The influence of Vaccine Diluent.
Vet. Rec. 93, 458 (1973)
- GOUGH, R.E.,
D.I. ALEXANDER: The Speed of Resistance to Challenge,
induced in Chickens Vaccinated by
Different Routes with a B₁ - Strain
of Live NDV.
Vet. Rec. 92, 21 (1973)

- GRÄNZER, W.: Aerosol-Therapie beim Tier
Verabreichung von Gamma-Globulin beim
Kalb.
Med. Vet. Diss. München (1968)
- GRATZL, E., H. KÖHLER: Spezielle Pathologie und Therapie der
Geflügelkrankheiten.
F. Enke Verlag, Stuttgart (1968)
- HAASE, B.: Aerosol-Therapie beim Tier
Verabreichung von Gamma-Globulin und
Vitamin A bei Hund und Ferkeln.
Med. Vet. Diss. München (1968)
- HIGGINS, D.A.: The effect of parenteral immunity on
the response of five days old chicks
to intranasal vaccination with F-strain
Newcastle Disease virus.
Trop. Anim. Health. Product 3/1, 1
(1971)
- HOFSTAD, M.S.: Infectious Bronchitis.
Beaster und Schwarte: Diseases of
Poultry.
Iowa, 605 (1965)
- HUBBERT, C.: Feldversuche der Vineland Laboratories
Ltd.
Höhere Titerwerte bei Spray-Impfung.
Fachdienst Geflügel, 42 (1973)

- JANSSEN, W.,
H. LÜDERS: Vergleichende Untersuchung über die Entwicklung haemagglutinationshemmender Antikörper nach Vakzinierung gegen Newcastle Disease mit dem Stamm H-B₁ und La-Sota, sowie deren Verträglichkeit im Feldversuch.
DTW 21, 579 (1971)
- KALETA, E.F.,
O. SIEGMANN: Vergleichende Untersuchungen über den Nachweis haemagglutinationshemmender und virusneutralisierender Antikörper nach Vaccinationen gegen die Newcastle Disease.
Archiv f. Geflügelkunde 35, 79 (1971)
- KALETA, E.F.: Kinetik der NDV-spezifischen Antikörper in Hühnern
III. Elimination der maternalen Antikörper der Hühnerküken.
DTW 79, 184 (1972)
- KALETA, E.F., A. KNAPP: Kinetik der NDV-spezifischen Antikörper in Hühnern. Kongreßbericht World Vet. Poultry Ass. München 136 (1973)
- KÖSTERS, J.: Beeinflussung des Immunsystems durch Erreger der infektiösen Bursitis.
Kongreßbericht Dt. Vet. Ges. Berlin, 51 (1972)

- KRAFT, H.: Wirksame Blutspiegel durch Aerosol-Therapie mit Chloromycetin-Succinat beim Hund.
Tzt1. Umschau 17, 278 (1962)
- LANDGRAF, H.,
E. VIELITZ: Versuche zur Immunisierung von Hühnerküken gegen atypische Geflügelpest (Newcastle-Krankheit).
DTW 20, 493 (1972)
- LANDGRAF, H.,
E. VIELITZ: Untersuchungen über den Impferfolg nach Anwendung verschiedener Impfprogramme und Impfvirusarten bei der Geflügelpest.
DTW 77, 393 (1979)
- MARKHAM, F.S., A.H.
HAMMAR, P. GINGHER,
H.R. COX: Vaccination against Newcastle Disease and Infections Bronchitis.
1. Preliminary studies in mass vaccination with live dust vaccines.
Poultry Sci. 34, 442 (1955)
- MONREAL, G.V., V. KRAFT,
J. BAUMER: Die minimale immunogene Dosis von lentogenem Newcastlevirus bei verschiedenen Infektionswegen.
BMTW 23, 453 (1972)
- MONREAL, G.V., H.M.
OPITZ; V. KRAFT: Untersuchung über die Minimaldosis von Newcastle-Trinkwasser-Impfstoffen.
Tzt1. Umschau 26, 12 (1971)

- MONREAL, G.V.: Die Immunitätsbildung bei der Newcastle-Krankheit und ihre Ausnutzung für die Prophylaxe.
Der prakt. Tierarzt, 13, 614 (1971)
- N.N.: Spray-Impfverfahren gegen Newcastle, Erfahrungsberichte und aktuelle Berichterstattung zu diesem Thema aus den USA.
Fachdienst Geflügel VI/3, 137 (1973)
- OTTO, E.: Biometrie.
Dt. Bauernverlag Berlin (1958)
- PRICE, R.J., C.A. BOTTORFF, K. SEEGER, A.W. SYLSTRA, F.S. MARKHAM: Vaccinations against Newcastle Disease and Infections Bronchitis
2. Field trials in mass vaccination with live virus dust vaccines.
Poultry Sci. 34, 449 (1955)
- PORSTENDÖRFER, J.: Untersuchungen zur Frage des Wachstums von inhalierten Aerosolteilchen im Atemtrakt.
Aerosol Sci. 2, 73 (1971)
- REISING, G., S.B. HITCHNER: A viability study of a frozen Newcastle-Vaccine for spray applikation.
Poultry Sci. 33, 494 (1954)
- ROLLE, M.A., MAYR: Mikrobiologie und allg. Seuchenlehre.
F. Enke Verlag, Stuttgart (1966)

- ROEPKE, W.J.: Vakzinationsversuche gegen Newcastle-Krankheit. Kongreßbericht
World Vet. Poultry Ass. München, 160
(1973)
- SIEGMANN, O.: Impfprophylaxe: Kontrolle der Vakzinationsergebnisse in der Massengeflügelhaltung.
Der prakt. Tierarzt 52, 616 (1971)
- SIEGMANN, O., E.F. Erfolgskontrolle nach Vakzinationen
KALETA, K. BROCKER, gegen die Newcastle Disease (ND).
W. JANSSEN, H. LÜDERS: Archiv f. Geflügelkunde 3, 121 (1973)
- SIGIMURA, T., T. KATAOKA, Influence of congenital passive
Z. NAGAISHI: immunity on the response of chicks to
Newcastle Disease-vaccinations.
Nat. Inst. Anim. Health. Quart. 10/3,
99 (1970)
- SCHNEIDER, B.: Zur Schutzimpfung gegen atypische Geflügelpest und Geflügelpocken.
Die blauen Hefte 1, 402 (1961)
- SCHNEIDER; B., H.J. Newcastle Disease-Immunisierungsprogramme und Empfänglichkeit der
BENGELSDORFF: Küken immuner Hennen.
BMTW 76, 371 (1963)
- SCHULZE-REHM, G.: Untersuchungen zur Spray-Vakzination
gegen atypische Geflügelpest unter

- Verwendung der Stämme Hitchner-B₁
und La-Sota.
Med. Vet. Diss. Berlin (1973)
- STEFFEN, C.: Allgemeine und experimentelle Immunologie und Immunpathologie.
G. Thieme Verlag Stuttgart (1968)
- STEPHENS, B.: Das Nachimpfprogramm.
Fachdienst Geflügel VI/3 (1973)
- STONE, H.D., W.A. BONEY: Newcastle Disease-Vaccination with
Beta-Propiolactone-inactivated virus
given intra-tracheally.
Av. Disease 16, 639 (1972)
- VEIMOS, G., I. MENASCHE, Untersuchungen zur Bestimmung des
A. SEIMENIS: Grades der antigenen Eigenschaften
einiger Impfstämme des Virus der Newcastle-Krankheit. Kongreßbericht
World Vet. Poultry Ass. München, 156
(1973)
- WIESMANN, E.: Med. Mikrobiologie.
G. Thieme Verlag Stuttgart (1969)
- WINTERFIELD, R.W., Newcastle Disease-Immunisation Studies.
E.H. SEADLE: 2. The immune response of chickens
vaccinated with B₁ Newcastle-Virus
administered through the drinking
water.
Poultry Sci. 36, 54 (1957)

WOERNLE, H.:

Verschiedene Newcastle Disease-Impf-
methoden und Beginn des Impfschutzes.
Kongreßbericht

World Vet. Poultry Ass. München, 161
(1973

An dieser Stelle möchte ich Herrn Prof. Dr. P. Dorn für die Überlassung des Themas, die Bereitstellung des Arbeitsplatzes, sowie für die großzügige Unterstützung bei der Anfertigung dieser Arbeit danken.

Frau Dr. E. Wessling und Herrn Dr. H. Wiedemann danke ich besonders für ihre Betreuung.

G. Lebenslauf:

Am 4. August 1945 wurde ich, Wolf-Dieter Graunke, als Sohn des Arztes Dr. Heinz Graunke und seiner Ehefrau Ilse, geb. Penz, in Greifswald geboren.

1952 wurde ich in meinem Heimatort eingeschult.

1960 übersiedelte ich in die BRD, wo ich 1966 am staatlichen Gymnasium in Kaufbeuren das Abitur bestand.

Nach 12-monatigem Wehrdienst begann ich im Sommer-Semester 1968 mit dem Studium der Veterinärmedizin an der tierärztlichen Fakultät der Universität in München, welches ich 1973 mit dem Staatsexamen abschloß.

Die vorliegende Arbeit entstand in den Jahren 1973 bis 1975.

